



**UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**  
**CAMPUS DE LUGO**

**UTILIZACIÓN DEL ZORRO COMO BIOINDICADOR  
DE LA CONTAMINACIÓN MEDIOAMBIENTAL:  
METALES PESADOS**

Memoria presentada para optar al  
grado de Doctor en Veterinaria por  
el licenciado Germán Quintana Díez

**Lugo, septiembre de 2013**



**LUIS EUSEBIO FIDALGO ÁLVAREZ** Profesor Titular y **ANA MARÍA LÓPEZ BECEIRO** Profesora Contratada Doctora, pertenecientes al Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad de Santiago de Compostela

**INFORMAN:**

Que el trabajo de investigación presentado por el licenciado en Veterinaria **D. Germán Quintana Diez**, titulado ***Utilización del zorro como bioindicador de la contaminación medioambiental: metales pesados*** se ha realizado bajo nuestra dirección en el Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad de Santiago de Compostela, y consideramos que cumple todos los requisitos para optar al grado de Doctor.

En Lugo, a dos de septiembre de 2013.

Luis Eusebio Fidalgo Álvarez

Ana María López Beceiro







Unidad de Toxicología  
Facultad de Veterinaria  
Avda de la Universidad s/n  
10071 Cáceres  
E-mail: marcospl@unex.es




**MARCOS PÉREZ LÓPEZ**, Profesor Titular de Universidad del área de Toxicología del Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura,

**INFORMA:** Que la presente Tesis Doctoral presentada por el Licenciado en Veterinaria D. Germán Quintana Díez, titulada “UTILIZACION DEL ZORRO COMO BIOINDICADOR DE LA CONTAMINACIÓN MEDIOAMBIENTAL: METALES PESADOS” se ha realizado bajo mi codirección, cumple los requisitos exigidos a este tipo de trabajos, y se encuentra en disposición de ser defendida ante el Tribunal correspondiente.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente informe en Cáceres, a 15 de Julio de 2013.



  
Fdo. Marcos Pérez López



---

# AGRADECIMIENTOS

---





## AGRADECIMIENTOS

Como es posible que se quede alguna persona en el tintero, me gustaría mostrar mi gratitud a todas aquellas que, de una u otra forma, han contribuido a que este proyecto haya llegado a buen puerto.

En primer lugar, mostrar mi más sincera gratitud a mis directores, los doctores Luis E. Fidalgo, Ana M<sup>a</sup> López y Marcos Pérez, por los consejos y paciencia que me han brindado durante todos estos años.

Al profesor Luis Alberto Ramil Novo por la inestimable ayuda prestada en el diseño y por el asesoramiento para llevar a cabo el estudio estadístico de los datos.

También me gustaría agradecer a todos los compañeros con los que me he iniciado en el mundo clínico en el Hospital Veterinario Universitario Rof Codina, especialmente a mis compañeros del Servicio de Medicina Interna, del Servicio Ambulatorio de Animales de Renta y Équidos, haciéndolo extensible a todos y cada uno de los miembros del Hospital sin excepción.

No puedo olvidar mi agradecimiento a los profesores y compañeros con los que compartí mis años en la Facultad de Veterinaria de Lugo, ya que contribuyeron a mi formación como profesional y como persona.

A la Federación Galega de Caza y a todos sus afiliados por colaborar de forma desinteresada en este proyecto.

A todo el personal del Departamento de Sanidad Animal de la Universidad de Extremadura que ha colaborado en el procesamiento de las muestras.

A todos mis amigos de Lugo a los que por la distancia no puedo visitar con la frecuencia con que me gustaría.

A Natalia y Bruno por animarme a perseguir los sueños aunque parezcan inalcanzables.

A mis amigos y compañeros de Draco Animal y de Canescola, especialmente a Katya y a Miriam, por estar ahí siempre que les he pedido ayuda.

A todo el equipo humano del Centro Veterinario “A Marosa” (Cristina, Alfonso, Xavi, Estefanía, Roi, Ara, Yaya, Laura, Sonia y Uxía), mi otra gran familia.

Y por último, me gustaría agradecer a toda mi familia, mis padres, hermanas, suegros, a mi mujer y muy especialmente a mi hijo Germán, posiblemente lo mejor que he hecho en mi vida. Gracias a todos por apoyarme en todos los proyectos que he emprendido y por aguantar mis defectos y manías.



# ÍNDICE







# ÍNDICE GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>5</b>
<b>3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>9</b>
3.1. EL ZORRO	11
3.1.1. TAXONOMÍA	11
3.1.2. ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA ESPECIE	12
3.1.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	13
3.1.4. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA	14
3.1.5. HÁBITAT	15
3.1.6. ETOLOGÍA	16
3.1.6.a. Organización y comportamiento social	16
3.1.6.b. Rastros	17
3.1.7. REPRODUCCIÓN	18
3.1.8. ALIMENTACIÓN	19
3.1.9. DINÁMICA DE POBLACIONES	20
3.1.9.a. Estimación de la abundancia	20
3.1.9.b. Estimación de la edad y sexo de la población	22
3.1.9.c. Parámetros reproductivos	23
3.1.9.d. Morbilidad y mortalidad	23
3.1.9.e. Estado de conservación y de protección	25
3.2. ECOTOXICOLOGÍA Y BIOMONITORIZACIÓN AMBIENTAL	25
3.2.1. ELECCIÓN DE UN BIOINDICADOR	27
3.2.2. APTITUDES DE LOS MAMÍFEROS SALVAJES TERRESTRES COMO BIOINDICADORES	28
3.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CONTENIDO DE METALES PESADOS EN LOS MAMÍFEROS SILVESTRES EN GENERAL Y EN EL ZORRO EN PARTICULAR	29
3.3.1. HÁBITAT Y ESTACIONALIDAD	29
3.3.2. ALIMENTACIÓN	30
3.3.3. SEXO	30
3.3.4. EDAD	31
3.3.5. EL ZORRO COMO BIOINDICADOR	31

3.4. METALES PESADOS: IMPLICACIÓN MEDIOAMBIENTAL .....	35
3.4.1. ZINC .....	40
3.4.1.a. Propiedades fisicoquímicas .....	41
3.4.1.b. Fuentes de zinc .....	41
3.4.1.c. Funciones y efectos tóxicos del zinc .....	42
3.4.2. PLOMO .....	44
3.4.2.a. Propiedades fisicoquímicas .....	44
3.4.2.b. Fuentes de plomo .....	44
3.4.2.c. Funciones y efectos tóxicos del plomo .....	46
3.4.3. CADMIO .....	47
3.4.3.a. Propiedades fisicoquímicas .....	47
3.4.3.b. Fuentes de cadmio .....	48
3.4.3.c. Funciones y efectos tóxicos del cadmio .....	49
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>51</b>
4.1. TOMA DE MUESTRAS .....	53
4.2. PROCESADO DE LAS MUESTRAS .....	56
4.3. ANÁLISIS DE CADMIO, PLOMO Y ZINC MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA .....	58
4.3.1. CONDICIONES DEL ANÁLISIS .....	59
4.3.2. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS .....	62
4.3.2.a. Exactitud .....	62
4.3.2.b. Linealidad y sensibilidad .....	62
4.3.2.c. Control de calidad .....	64
4.4. REACTIVOS, MATERIAL E INSTRUMENTAL UTILIZADOS .....	64
4.4.1. REACTIVOS .....	64
4.4.2. MATERIAL .....	65
4.4.3. INSTRUMENTAL .....	65
4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS .....	66

<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	67
5.1. RESULTADOS CORRESPONDIENTES A OBSERVACIONES GENERALES SOBRE EL GRUPO DE ESTUDIO	69
5.2. VALORES GENERALES DE LOS METALES EN LAS DIFERENTES MUESTRAS	72
5.2.1. FACTORES DE VARIACIÓN ENDÓGENOS: SEXO Y EDAD	81
5.2.2. FACTORES DE VARIACIÓN EXÓGENOS: EL HÁBITAT	100
5.3. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE LOS METALES PESADOS, LOS DIFERENTES TEJIDOS Y SEGÚN LOS FACTORES ANALIZADOS	119
5.4. INFLUENCIA DEL SEXO, LA EDAD Y EL ÁMBITO GEOGRÁFICO EN LOS NIVELES DE PLOMO, CADMIO Y ZINC EN EL ZORRO	125
5.4.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS FACTORES INFLUYENTES	125
5.4.2. DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVOS	128
<b>6. CONCLUSIONES</b>	139
<b>7. RESÚMENES</b>	143
7.1. RESUMEN	145
7.2. RESUMO	147
7.3. ABSTRACT	149
7.4. RESUMÉ	151
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	153
<b>ANEXOS</b>	
ÍNDICE DE GRÁFICAS	177
ÍNDICE DE IMÁGENES	181
ÍNDICE DE TABLAS	183



---

# ABREVIATURAS

---



## ABREVIATURAS UTILIZADAS

ATSDR: Agency For Toxic Substances And Disease Registry

μl: microlitro

μg: microgramo

μg/g: microgramo/gramo

μg/l: microgramo/litro

a.C.: antes de Cristo

Al: aluminio

As: arsénico

Ca: calcio

Cd: cadmio

Co: cobalto

Cr: cromo

Cu: cobre

DL<sub>50</sub> : dosis letal media

FGC: Federación Galega de Caza

Fe: hierro

g: gramo

g/cm<sup>3</sup>: gramo/centímetro cúbico

g/ml: gramo/mililitro

g/mol: gramo/mol

Hg: mercurio

HMDE: electrodo de gota colgante de mercurio

ITIS: Integrated Taxonomic Information System

IUCN: International Union For Conservation Of Nature

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

K: potasio

m: metro

M: molar

Mg: magnesio

mg/l: miligramo/litro

MMA: Ministerio de Medio Ambiente

MME: electrodo multimodo de mercurio

Mn: manganeso

Mo: molibdeno

mseg: milisegundo

mV: milivoltio

Na: sodio

ng/g: nanogramo/gramo

Ni: níquel

NRC: National Research Council

OIE: Organización Internacional de Epizootias

Pb: plomo

ppm: partes por millón

Pt: platino

Ru: rubidio

Sb: antimonio

Se: selenio

Sn: estaño

Ti: titanio

V: vanadio

WHO: World Health Organization

Zn: zinc





# INTRODUCCIÓN





# 1. INTRODUCCIÓN

El género *Vulpes* agrupa a un conjunto de cánidos de talla mediana denominados vulgarmente como zorros o raposos, estando representados en la actualidad por numerosas especies y subespecies que se distribuyen por prácticamente todo el planeta, siendo un animal nativo en Eurasia, América y África e introducido en otras regiones como en la Austral. Tanto en Galicia como en el resto de la Península Ibérica se cuenta con una población estable de zorro común, *Vulpes vulpes*, la única especie de este género presente en todo el territorio ibérico.

Los hábitos tróficos del zorro poseen especial interés para la investigación (enfermedades infectocontagiosas, zoonosis, ecotoxicología, etc.), ya que no resulta infrecuente detectar su presencia cerca de asentamientos humanos y explotaciones ganaderas, siendo habituales las visitas a basureros y centros de acumulación de residuos, donde pueden encontrar alimento con relativa facilidad. Es este hecho, el característico comportamiento del zorro, lo que condiciona que una parte importante de la dieta esté integrada por restos y desperdicios urbanos.

Así mismo la cercanía de muchos ejemplares a las poblaciones humanas despierta gran interés a la hora de iniciar este proyecto, en el cual se intentará valorar su utilidad como bioindicador de la contaminación ambiental, sirviendo para cuantificar el impacto del hombre, de sus poblaciones y centros de acumulación de residuos sobre la fauna y flora gallegas.

Si además se tiene en cuenta el elevado número de ejemplares disponibles, la posibilidad de realizar un muestreo considerable, su amplia distribución geográfica y sus características etológicas, se puede llegar a concluir que el zorro común es una especie idónea para estudios de estas características.

El término Ecotoxicología fue acuñado por Truhaut en el año 1969 en respuesta a la creciente preocupación por los problemas de contaminación medioambiental generados por la polución. Posteriormente, a mediados de los años 80 del siglo XX, se hacen evidentes otros efectos secundarios como la bioacumulación, proceso ambiental asociado a la capacidad de incrementar los problemas de toxicidad en los organismos vivos. Así pues, la Ecotoxicología es una ciencia que estudia el origen de los contaminantes, su transporte entre distintos compartimentos ambientales, las transformaciones que tienen lugar en estos y, finalmente, los efectos que originan en el ecosistema.

La escasez de estudios en el noroeste peninsular, en los que se emplee el zorro como bioindicador, nos anima a continuar la presente línea de trabajo, centrada en determinar la utilidad de distintas especies animales como bioindicadores de contaminación ambiental, y en este caso concreto, la utilidad del zorro común como bioindicador de contaminación por metales pesados en Galicia.

Nuestro trabajo se centrará en valorar la presencia de metales pesados en esta especie situada en la parte alta de la cadena trófica. Los bioindicadores pueden ser de utilidad para rastrear la

contaminación potencial debida a una gran diversidad de compuestos químicos (plaguicidas, dioxinas, hidrocarburos, etc.) y fenómenos físicos (radioactividad, etc.); más aún, estos indicadores pueden y deben constituir instrumentos de gran utilidad que permitan un control regular de la contaminación ambiental, permitiendo detectar alteraciones en el ecosistema y adoptar las medidas de gestión oportunas de forma temprana.



---

# OBJETIVOS

---





## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente estudio consiste en valorar la idoneidad del zorro (*Vulpes vulpes*) como bioindicador de la contaminación del medio por metales pesados. Para la consecución de este objetivo, en este trabajo, se consideran diferentes hábitats en relación con las actividades antropomorfas (agroforestal, monte y periurbano). Para ello se tomará como referencia la mayor o menor cercanía de los animales a asentamientos humanos y/o centros de acumulación de residuos.

A partir de este objetivo principal, se plantean, por tanto, los siguientes objetivos secundarios concretos:

- Determinar las concentraciones de metales pesados en distintos órganos y tejidos de zorro común.
- Estudiar las posibles correlaciones que puedan establecerse entre los elementos químicos analizados y que puedan ser de utilidad en futuros estudios de biomonitorización ambiental de tales contaminantes.
- Determinar si existe una relación directa entre la presencia o concentración de metales pesados en los órganos y tejidos del zorro y el diferente aprovechamiento del hábitat.
- Establecer si la concentración de metales pesados guarda relación con el sexo y la edad del animal.





---

# REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

---





### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. EL ZORRO

##### 3.1.2. TAXONOMÍA

El zorro (*Vulpes vulpes*) es un mamífero carnívoro perteneciente a la familia *Canidae*, en la cual se engloban 13 géneros, entre ellos, además del género *Vulpes*, cabe destacar el género *Canis*, que incluye al lobo (*Canis lupus*) y al perro doméstico (*Canis lupus familiaris*) (ITIS, 2010).

FAMILIA CANIDAE
<i>Atelocynus</i>
<i>Canis</i>
<i>Cerdocyon</i>
<i>Chrysocyon</i>
<i>Cuon</i>
<i>Dusicyon</i>
<i>Lycalopex</i>
<i>Lycaon</i>
<i>Nyctereutes</i>
<i>Otocyon</i>
<i>Speothos</i>
<i>Urocyon</i>
<i>Vulpes</i>

**Tabla 1.** Géneros de la familia *Canidae* (ITIS, 2010).

La especie *Vulpes vulpes* fue descrita taxonómicamente por primera vez en el año 1758 por Linneo, siendo descrita con posterioridad por otros autores la existencia de 45 subespecies (ITIS, 2010), cada una de las cuales presenta una distribución geográfica bien definida. Se cree que esta gran variedad de subespecies se debe a la introducción y reintroducción del zorro en diversas regiones del planeta a lo largo de los siglos, asociada a su alta capacidad adaptativa (IUCN, 2004).

De todas estas subespecies, dos son las de mayor interés para el presente estudio: el zorro común europeo (*Vulpes vulpes crucigera*) y el zorro común ibérico (*Vulpes vulpes silacea*). Aunque no se conocen con exactitud los límites geográficos de distribución de ambas, la segunda se considera una subespecie endémica de la Península Ibérica (Cabrera, 1914; Wandeler y Lups, 1993; De Camps, 2004).

CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA		
<b>Reino</b>	<i>Animalia</i>	
<b>Filo</b>	<i>Chordata</i>	
<b>Clase</b>	<i>Mammalia</i>	
<b>Orden</b>	<i>Carnivora</i>	
<b>Suborden</b>	<i>Caniformia</i>	
<b>Familia</b>	<i>Canidae</i>	
<b>Genéro</b>	<i>Vulpes</i> (Frisch, 1775)	
<b>Especie</b>	<i>vulpes</i> (Linnaeus, 1758)	
<b>Subespecies</b>	<i>crucigera</i> (Bechstein, 1789)	Zorro común europeo
	<i>silacea</i> (Miller, 1907)	Zorro común ibérico

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica del zorro (Blanco y González, 1992; García-Perea y Gisbert, 1998).

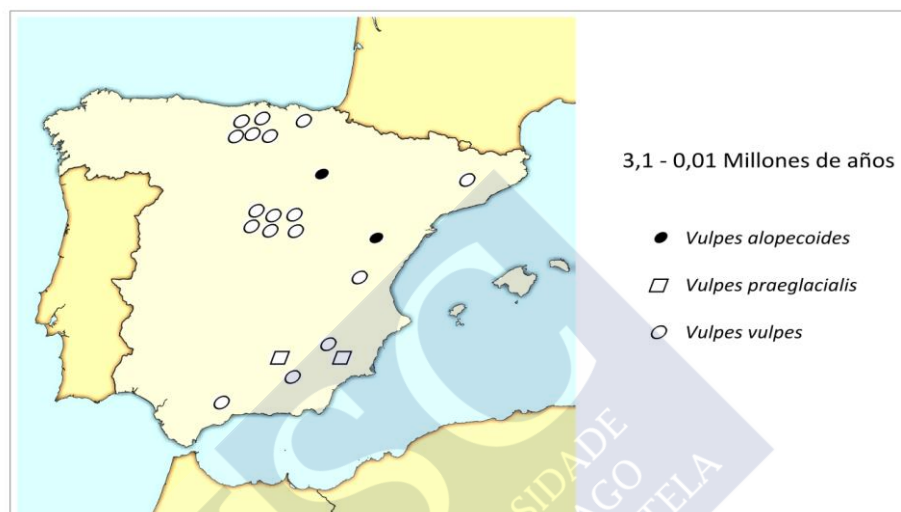
### 3.1.2. ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA ESPECIE

Aunque aún existen lagunas que impiden aclarar el origen y evolución del género *Vulpes*, los estudios moleculares parecen demostrar que su origen data del Mioceno Medio (Garrido y Arribas, 2008). En el Pleistoceno Medio, aproximadamente hace 400.000-180.000 años, surgen ya las líneas evolutivas que darán lugar a las dos formas actuales del zorro en Europa: el zorro (*Vulpes vulpes*) que proviene del *Vulpes alopecoides* y el zorro polar (*Alopex lagopus*) que inicia su diferenciación a partir del *Vulpes (Alopex) praeglacialis* (Castaños, 1990).

Atendiendo a la distribución, el género *Vulpes* aparece en Eurasia a mediados del periodo Villafranchiense, durante el Plioceno, mientras que en el continente africano los primeros registros fósiles datan del Pleistoceno Inferior. En la actualidad este género cuenta con una decena de especies, distribuidas por todo el mundo, siendo el zorro el que presenta una mayor distribución (Eurasia, Norteamérica y norte de África), siendo considerado como el carnívoro más adaptable y ampliamente distribuido (Garrido y Arribas, 2008).

Las poblaciones de *Vulpes alopecoides* que habitaron la Península Ibérica desde finales del Plioceno Superior hasta hace 10.000 años, presentaban una distribución limitada a la cuenca del Ebro, mientras que las poblaciones de *Vulpes (Alopex) praeglacialis* se centraban durante el Pleistoceno Inferior en el sureste peninsular. El zorro común (*Vulpes vulpes*) se extendió por toda la Península desde el Pleistoceno Medio hasta la actualidad (Arribas y Palmqvist, 2010).

Estudios recientes han revelado la existencia de restos óseos de zorro ártico (*Alopex lagopus*) en yacimientos paleolíticos cantábricos, lo que demuestra la presencia en el norte de la Península Ibérica en el pasado de una especie denominada fría, indicadora de las condiciones climáticas existentes en ese período (Altuna, 2004). Aunque no se sabe con exactitud el momento de su extinción en nuestro país, este debiera ser próximo al cambio climático que acaece al final del Pleistoceno (Castaños, 1990).



**Imagen 1.** Distribución de los yacimientos españoles con fósiles de zorro (adaptado de Arribas y Palmqvist, 2010).

Todavía existen dudas acerca del origen y evolución de las distintas subespecies eurasiáticas, pero se cree que la subespecie *Vulpes vulpes silacea* podría haberse diferenciado ya en el Neolítico (Castaños, 1990).

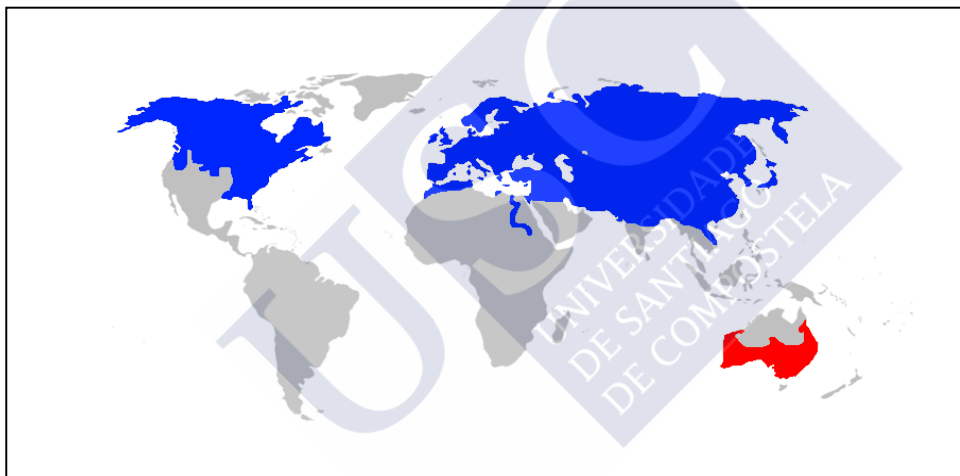
### 3.1.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

El raposo es el carnívoro silvestre más cosmopolita como consecuencia, entre otros aspectos, de la intervención humana sobre el medio y sobre las poblaciones vulpinas (IUCN, 2004; Palomo et al., 2007). Se distribuye por todo el hemisferio norte, desde el Círculo Polar Ártico hasta el norte de África, incluyendo las estepas asiáticas. Está presente en la práctica totalidad de Europa y Asia, con excepción de las regiones más septentrionales como Islandia y las islas del Ártico.

Las subespecies europeas se introdujeron en el este de los EE.UU. y Canadá en el siglo XVII, mezclándose con las subespecies autóctonas (IUCN, 2004). En el siglo XIX se liberó en Australia y

Nueva Zelanda con fines cinegéticos y para el control de la población cunícola (Rolls, 1969). Actualmente esta especie se considera una plaga en el país austral, ya que ha contribuido al deterioro o extinción de especies nativas, particularmente herbívoros de pequeño tamaño y aves que anidan en el suelo (Morton, 1990; Catling y Burt, 1995; Lunney, 2001).

El zorro común está presente en toda la Península Ibérica, desde nivel del mar hasta la alta montaña, pero ausente en las Islas Baleares y Canarias (García-Perea y Gisbert, 1997). Es más abundante en zonas urbanas, periurbanas y cerca de basureros y vertederos, por suponer una fuente accesoria de alimento (García et al., 2009). Como ya se ha comentado, la subespecie que habita la Península Ibérica es *V.v. silacea*, que se distingue por detalles en su pigmentación de la del resto de Europa, *V.v. crucigera* (cuyo límite de distribución meridional se sitúa en los Pirineos). No obstante, algunos autores no consideran que estas disparidades tengan valor taxonómico (Palomo et al., 2007). A estas dos subespecies podemos añadirle el *V.v. ichnusae* descrita en las islas de Córcega y Cerdeña, que se originó a partir de *V.v. crucigera* como consecuencia del aislamiento geográfico (Riga, 2007).



**Imagen 2.** Mapa de distribución de *Vulpes vulpes*. Azul: población nativa. Rojo: población introducida (adaptado de Fidalgo et al., 2009).

### 3.1.4. DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA

El zorro común (también denominado rojo) es un cánido de talla media, el de mayor tamaño de todas las subespecies del género *Vulpes* (López-Martín et al., 2007). Esta especie se caracteriza por su larga y poblada cola, que puede llegar a medir hasta un 70% de la longitud del resto de su cuerpo (Palomo et al., 2007), si bien este tamaño se reduce considerablemente (hasta el 54%) en los ejemplares vulpinos estudiados en Galicia (Fidalgo et al., 2009). Los raposos presentan un hocico fino y alargado, acabado en un belfo blanco. Las orejas son triangulares, móviles y erguidas, con su dorso negro. Sus extremidades son largas y esbeltas, con manos y pies pequeños (Fidalgo et al., 2010).

El pelaje, suave y espeso, exhibe una coloración variable abarcando desde formas casi melánicas hasta ejemplares con un cromatismo pálido-amarillento (Palomo et al., 2007). Habitualmente se encuentran tres capas predominantes: roja, plateada (negra con destellos plateados) y gris-marrón con largos pelos negros en la parte caudal del dorso y atravesando la región de la cruz (Johnson y Hersteinsson, 1993). Las extremidades poseen distalmente una pigmentación bruna. En algunos individuos la cola remata con pelos blancos (IUCN, 2004).

Los cachorros nacen con un pelaje pardo oscuro uniforme, pero al mes de vida las zonas ventrales de la cabeza y tronco así como las caras mediales de las extremidades adquieren una coloración clara. Sin embargo, los extremos (orejas, hocico, pies y manos) permanecen negros y la cola suele tener una banda terminal de pelos blancos (Palomo et al., 2007). Los ojos son redondos, de color marrón avellana en adultos y azulados en cachorros, proporcionalmente pequeños respecto al tamaño de su cabeza, y con la pupila ligeramente alargada en un plano vertical en condiciones de gran iluminación y circular con poca luz (Larivière y Pasitschniak-arts, 1996).

Existe una gran variabilidad individual y geográfica en el tamaño corporal y medidas morfométricas del zorro rojo (IUCN, 2004; Palomo et al., 2007). La longitud del cuerpo oscila entre 45 y 90 cm y la longitud de la cola entre 30 y 55 cm. El peso varía entre 3 y 14 kg, siendo normalmente mayor en los machos que en las hembras (Gortázar, 1997; Soulsbury et al. 2000). Las subespecies existentes en los desiertos poseen una menor envergadura que los zorros europeos. Atendiendo a la diversidad geográfica se puede indicar que los zorros de Norteamérica son comparativamente más esbeltos y presentan un importante dimorfismo sexual; sin embargo, los ejemplares británicos son más pesados y relativamente más cortos (IUCN, 2004).

La fórmula dental del *Vulpes vulpes* es: I 3/3 C 1/1 PM 4/4 M 2/3 (x 2) = 42 (Schmidly, 2004). La dentadura de los zorros se emplea para estimar la edad del animal en base al recuento de bandas en el cemento de las piezas dentarias (el método más preciso), al estudio de la cavidad pulpar en los caninos o al desgaste general de toda la dentadura (Zapata et al., 1995).

A nivel genético, el número de cromosomas presenta la siguiente fórmula:  $(2n) = 34$  (Rausch y Rausch, 1979; Wozencraft, 1993; Palomo et al., 2007) y de 3 a 5 microsomas (Wozencraft, 1993), en contraste con la fórmula cromosómica del *Canis lupus* y *Canis lupus familiaris*, que es  $(2n) = 78$  (Stephen et al., 2006). Por este motivo no es posible la hibridación entre el zorro y el perro o el lobo.

### 3.1.5. HÁBITAT

El zorro presenta cierta predilección por zonas heterogéneas en las que se alternan matorral, bosque y extensiones agrarias; aprovechando también las proximidades de asentamientos humanos, áreas urbanas y periurbanas, donde se alimenta fácilmente y puede perder su comportamiento territorial (Mac Donald, 1980; Harris, 1981<sup>b</sup>; Blanco, 1998<sup>a</sup>).

A pesar de presentar predilección por entornos como los mencionados anteriormente, lo cierto es que el zorro habita todo tipo de ambientes, desde el subártico hasta el desierto, tanto en medios forestales como en espacios abiertos, e incluso en grandes núcleos urbanos como Londres, París o Estocolmo, gracias a la capacidad de adaptación a cualquier medio capaz de ofrecer refugio y alimento (Blanco, 1998<sup>a</sup>; IUCN, 2004; Fidalgo et al., 2009). La disponibilidad trófica es el factor que más condiciona la distribución de esta especie (Mac Donald, 1980; Harris, 1981<sup>b</sup>; Blanco, 1998<sup>a</sup>).

En España, como en el resto del mundo, se ha descrito su presencia en regiones a nivel del mar e incluso en zonas de alta montaña, viéndose favorecida su expansión por la existencia de ambientes heterogéneos (Fidalgo et al., 2009).

### **3.1.6. ETOLOGÍA**

El zorro posee los sentidos del olfato, oído y vista muy desarrollados, lo que condiciona sus patrones de comportamiento (Larivière y Pasitschniak-Arts, 1996). Su actividad es fundamentalmente nocturna, con picos en el orto y el ocaso (Palomo et al., 2007), si bien puede mostrar un comportamiento más diurno en aquellas zonas donde no es incomodado por la presencia humana; así, la actividad diurna es mayor en áreas poco frecuentadas y cuando las noches son cortas (Rau et al., 1985; IUCN, 2004).

#### **3.1.6.a. Organización y comportamiento social**

Los zorros son animales independientes y generalmente buscadores solitarios, aunque algunos ejemplares pueden vagar con cierta proximidad a otros congéneres cuando los recursos son reducidos o si la abundancia de alimento se concentra en una zona concreta (IUCN, 2004). Durante la época reproductiva la unidad social básica es la pareja, aunque se pueden observar grupos mayores de forma excepcional (Harris y Lloyd, 1991; IUCN, 2004). Existen ejemplares solitarios, conocidos como zorros nómadas (la mayor parte machos), sin un territorio definido y que suponen sólo el 15% de la población adulta (Harris y Baker, 2001).

El tamaño del área frecuentada oscila notablemente, desde 0,40 km<sup>2</sup> (en zonas urbanas) hasta superiores a 40 km<sup>2</sup> (regiones subárticas). Estos territorios son defendidos activamente de otros posibles competidores y sólo, en algunas épocas del año, y si existen excedentes alimentarios, pueden observarse casos de superposición de territorios (Mac Donald, 1980).



### 3.1.6.b. Rastros

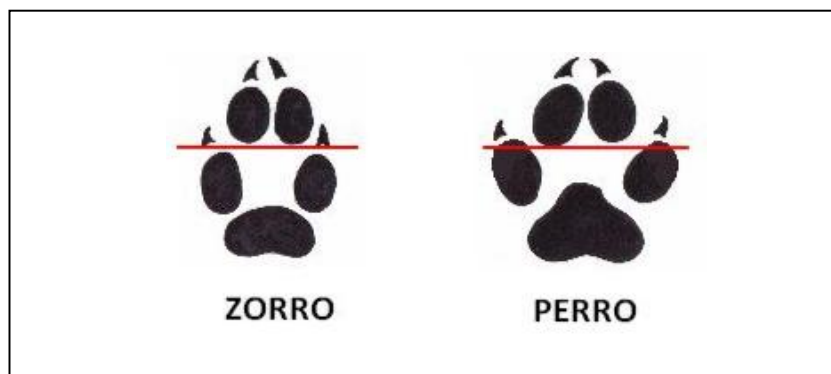
Tanto el tejón como el zorro fabrican madrigueras muy similares en su estructura interna, pudiendo este último cavar las propias o agrandar las de otras especies (Serrano y Cicuéndez, 1997). Su estructura va desde un simple agujero con una cavidad espaciosa a una ramificación extensa de galerías, en algunos casos de más de 20 m. La diferencia principal es que el zorro acumula la tierra extraída alrededor de la entrada quedando un abanico claramente visible y el tejón la amontona fuera de su guarida (Ballesteros, 1998). En época de cría en la guarida del zorro, frecuentemente, habrá restos del alimento consumido (Serrano y Cicuéndez, 1997).

Sus deyecciones son de tamaño muy variable (5-20 cm de longitud y 1,5-2,5 cm de grosor) y suelen estar divididas en varios cuerpos. El color varía con el tipo de alimento ingerido, así como su olor. Es habitual la presencia de huesos, pelos, escamas, plumas, restos de frutos, élitros y trozos quitinosos de insectos en sus deposiciones (Harris, 1984; Serrano y Cicuéndez, 1997; Barja et al., 2001; Hernández, 2001).

Los zorros sitúan sus excrementos fundamentalmente en puntos destacados (plantas, elevaciones del terreno, piedras, cruces de caminos, carroña, excrementos de otras especies y objetos de origen humano) para amplificar de forma visual y olfativa su eficiencia señalizadora. En los cruces de caminos es muy frecuente detectar sus deyecciones, lo que aumenta la probabilidad de ser reconocidos por otros individuos de la misma especie (Barja et al., 2001).

El zorro posee, tanto en las extremidades anteriores como posteriores cinco dedos, de los que en su huella sólo marca cuatro, debido a que el primer dedo está situado en ambos casos en una posición más proximal y no contacta con el suelo. En las huellas de todas las extremidades se marcan la almohadilla plantar, de mayor tamaño, y las cuatro almohadillas digitales (Fidalgo et al., 2010).

Las huellas son similares a las de los perros, con un tamaño de 5 cm de largo y 3-4 cm de ancho. Generalmente se desliza al trote y con las huellas en posición oblicua a la dirección en que camina. La separación entre dos huellas consecutivas es de unos 30 cm (Harris, 1984; Serrano y Cicuéndez, 1997; Ballesteros, 1998). Se puede diferenciar la huella del zorro de la de los perros trazando una línea recta que atraviese entre el punto más caudal de las almohadillas centrales y el más craneal de las laterales. En el zorro esta línea no corta ninguna almohadilla, mientras que en el perro sí (Murie y Elbroch, 2005; Arnosky, 2008).



**Imagen 3.** Comparación entre la huella de un zorro común y un perro (Murie y Elbroch, 2005; Arnosky, 2008).

### 3.1.7. REPRODUCCIÓN

El zorro es una especie monoéstrica estacional, siendo el fotoperíodo junto con la temperatura ambiental los dos factores que más determinan el inicio y el final de la estación reproductiva (McDonald y Reynolds, 2005; Valdespino, 2007).

La dinámica poblacional de esta especie parece responder a mecanismos compensatorios y así, cuando aumenta la mortalidad en la población, ésta se ve compensada por el aumento de la fertilidad, el tamaño de la camada o la supervivencia de los ejemplares juveniles (Gentle, 2005).

La madurez sexual se alcanza en el primer año de vida, a los 9-10 meses de edad, pero en áreas de elevada densidad poblacional muchas de las hembras jóvenes no entran en celo, abortan o abandonan su camada (McIlroy et al., 2001; IUCN, 2004; Palomo et al., 2007).

La cópula tiene lugar entre los meses de diciembre y febrero (Jeanne, 1987, IUCN, 2004; Gentle, 2005). Las hembras son receptivas durante un periodo de 1 a 6 días, que es la duración estimada del estro (Cavallini y Santini, 1996; IUCN, 2004).

La mortalidad intrauterina es habitual, sobre todo en etapas previas a la implantación, observándose con más frecuencia en hembras jóvenes de menos de un año. Estas pérdidas embrionarias y fetales responden a una situación estresante relacionada con la disponibilidad de recursos tróficos y a las interacciones sociales (Cavallini y Santini, 1996; Ballesteros, 1998).

El parto tiene lugar en la madriguera tras una gestación de 49-55 días, teniendo lugar los nacimientos entre marzo y mayo (Martorell y Gortázar, 1993; IUCN, 2004; Gentle, 2005; McDonald y Reynolds, 2005). Las hembras pueden preparar varias madrigueras, pudiendo cambiar los cachorros de localización varias veces durante la época de cría (Gentle, 2005).

En la Península Ibérica el tamaño de la camada puede variar entre uno y siete cachorros en función de la disponibilidad de alimento y factores sociales (Cavallini y Santini, 1996; IUCN, 2004; Palomo et al., 2007). Este tamaño es inferior al observado en otras regiones europeas, lo que parece indicar que la población vulpina ibérica está estabilizada en una densidad alta, otorgando a esta población una elevada capacidad de respuesta ante posibles bajas poblacionales (Ceballos et al., 1991; Martorell y Gortázar, 1993; Gortázar, 1999; MMA, 2006).

A los tres meses de edad los cachorros abandonan completamente la madriguera y comienzan a cazar con la madre, siendo las madrigueras excavadas de vital importancia para su protección mientras son jóvenes (Ballesteros, 1998).

Los zorros jóvenes se pueden emancipar del grupo entre los 6 y 12 meses de edad, ya con talla adulta, teniendo lugar esta separación entre los meses de octubre y enero, momento en el cual los animales más jóvenes comienzan la búsqueda de nuevos territorios (Larevière y Pasitschniak-Arts, 1996).

### 3.1.8. ALIMENTACIÓN

El análisis de la dieta del raposo constituye un primer paso en el estudio de la ecología del animal ya que la alimentación refleja el empleo de los recursos disponibles, permite valorar su aprovechamiento y las interacciones competitivas intra y extraespecíficas (Rau et al., 1987; Boitani y Fuller, 2000).

El régimen alimentario varía enormemente de unas regiones a otras y también de forma estacional, con una ingesta diaria que se estima entre 300 y 600 gramos. Se le puede considerar omnívoro o carnívoro oportunista dado que su dieta incluye mamíferos, invertebrados, aves, frutos, carroña, basura y otros alimentos estacionales que pueda encontrar en el medio. Como predadores, matan de forma habitual aves y mamíferos de talla equivalente a una liebre adulta (Larivière y Pasitschniak-Arts, 1996; McDonald y Reynolds, 2005).

Su carácter oportunista y su gran capacidad de adaptación a las fuentes tróficas disponibles le permiten rentabilizar al máximo los recursos de su entorno. Estos rasgos afectan positivamente a la estabilidad poblacional o incluso su crecimiento (Fuller y Sievert, 2001). Los diferentes alimentos consumidos por el zorro se clasifican en distintas categorías, tal como se muestra en la tabla 3 adjunta. En ambientes humanizados, más de la mitad de la dieta del zorro la integran las basuras y las carroñas de animales domésticos, pudiendo contener estos restos elementos no digeribles (Amores, 1975; Jensen y Sequeira, 1978; Calviño et al., 1984; Fedriani et al., 2001).

RECURSOS PRINCIPALES
<b>Pequeños mamíferos.</b> Constituyen en algunas regiones de Europa más del 75% de la dieta, siendo un porcentaje más reducido en España, posiblemente por no ser un recurso abundante (Calviño et al., 1984; Rau et al., 1987).
RECURSOS SECUNDARIOS
<p><b>Basura y carroña.</b> En zonas urbanas puede llegar a constituir el grueso de la ración (Calviño et al., 1984; Reig et al., 1985).</p> <p><b>Invertebrados.</b> Las lombrices de tierra e insectos pueden tener una gran importancia en determinadas regiones o épocas del año, siendo particularmente de interés en animales jóvenes durante el periodo de dispersión (Rau et al., 1987; Soulsbury et al., 2000).</p> <p><b>Frutos.</b> En épocas de abundancia de frutos y bayas constituyen una parte importante de la dieta (Fidalgo et al., 2009).</p> <p><b>Aves.</b> A pesar de una idea preconcebida de que las aves constituyen un porcentaje importante de la dieta, en la mayoría de los estudios realizados no superan el 15% de la misma (Blanco, 1988), pudiendo aumentar este porcentaje en zonas urbanas o periurbanas y tras una repoblación cinegética (Reynolds y Tapper, 1995).</p>
RECURSOS PUNTUALES
Se incluyen otros recursos tróficos que son ingeridos de forma esporádica tales como peces, cereales, erizos, topos, etc.

**Tabla 3.** Alimentos ingeridos por el zorro (adaptado de Ballesteros, 1998).

### 3.1.9. DINÁMICA DE POBLACIONES

#### 3.1.9.a. Estimación de la abundancia

Para estimar su población se han propuesto métodos de estudio indirectos como el recuento de huellas, número de excrementos u otros signos, que se realizan con un mínimo coste aún a riesgo de presentar ciertas imprecisiones (Bookhout, 1994).

Además existen muchos otros métodos, con sus ventajas e inconvenientes, pudiendo elegir entre uno u otro en función de las características del lugar, de la disponibilidad económica, del personal, de las horas de trabajo y otras variables:

Estaciones de cebado (Travaini et al., 2001).

Estaciones de olor (Roughton y Sweeny, 1982; MMA, 2006).

Batidas de caza (Fidalgo et al., 2009).

Censo de huellas (MMA, 2006).

Inventariado de madrigueras (Wandeler et al., 1974).

Número de excrementos en parcelas fijas (Palomares y Ruiz-Martínez, 1994).

Valoración de rastros en colaboración con radio-tracking (Rau et al., 1985).

Extrapolaciones a partir del tamaño medio de las áreas de campeo (Lloyd et al., 1976).

Combinaciones de estaciones de olor con conteo de rastros (Travaini et al., 1997).

Modelos basados en la combinación de métodos de captura y recaptura con datos sobre la dinámica poblacional (Vos, 1995).

Tablas de caza (Böger et al., 1974).

Recuentos de rastros en transectos diurnos casuales (Allen y Sargeant, 1975).

Censos desde avioneta (Allen y Sargeant, 1975).

Recorridos nocturnos con faro adicional (Stahl, 1990).

Los resultados obtenidos por distintos autores muestran una gran variabilidad en la densidad de población dependiendo del área geográfica, del uso del territorio y de la presencia de poblaciones humanas. En el Reino Unido, ésta oscila entre 4 individuos/km<sup>2</sup> en Escocia y hasta 1,17 individuos/km<sup>2</sup> en Gales, si bien puede llegar a densidades de hasta 30 ejemplares por km<sup>2</sup> (una de las mayores densidades conocidas) en áreas urbanas en las que existe comida abundante (Harris, 1981; Voigt, 1987; IUCN, 2004). Las densidades más bajas se han descrito en lugares de escasa disponibilidad de presas y/o donde el zorro coexiste con especies competidoras de mayor tamaño (Palomares y Ruiz-Martínez, 1994).

En la Península Ibérica no existen demasiados estudios, pero tal vez uno de los lugares estudiados hasta ahora con mayor densidad es la Reserva Biológica de Doñana, con 1,2 ejemplares adultos/km<sup>2</sup> (Rau et al., 1985), llegando a 1,7 en el año 1993 según Travaini (1994). Otros autores observan densidades aún mayores en zonas de regadío del Valle del Ebro, con 2,5 zorros adultos/km<sup>2</sup> (Gortázar, 1999). En la provincia de Burgos los ensayos ofrecen datos invernales de 0,77 a 0,92 zorros/km<sup>2</sup> en encinares y 0,34-0,36 zorros/km<sup>2</sup> en robledales (Tellería y Sáez-Royuela, 1986). En Aragón se han estimado en poblaciones, antes del periodo de partos, densidades de entre 0,8 (estepa) y 2,5 (regadío) individuos por km<sup>2</sup>.

En Galicia, en un estudio realizado durante un período de tres años, se estima una densidad media de la población invernal de zorros en 2,71 ejemplares por km<sup>2</sup>, más elevada en zonas periurbanas e inferior en zonas de monte (Fidalgo et al., 2009). La proliferación de esta especie en el noroeste peninsular puede deberse, en gran parte, a la disponibilidad de recursos tróficos derivados de la actividad antropomorfa (basureros, despojos de granjas, etc.); no obstante, la reciente política

del cierre de la mayoría de los vertederos incontrolados ocasionará una reducción significativa en la fuente de alimento, pudiendo provocar cambios en la dinámica poblacional de esta especie (Tapia y Domínguez, 2003).

### **3.1.9.b. Estimación de la edad y sexo de la población**

Es indispensable en cualquier estudio de dinámica de poblaciones conocer la estructura de edades de la misma, para lo cual se dispone de múltiples técnicas e índices de estimación. Así, entre las técnicas empleadas con más éxito en carnívoros en general y en el zorro en particular, destacan (MMA, 2006):

- Conteo de bandas en el cemento de piezas dentarias.
- Peso seco del cristalino.
- Morfometría del báculo.
- Cavidad pulpar de los caninos.
- Desgaste de las piezas dentales.

La gran variabilidad en la composición de los grupos de edad que conforman las poblaciones está influenciada por la época del año en que se realiza el muestreo, las campañas de control de la población y las extracciones intensas de ejemplares en los años anteriores a la realización del estudio (Fidalgo et al., 2010). Las actuaciones que suponen una disminución del número total de ejemplares implica que en años posteriores se incremente el porcentaje de individuos juveniles (Larivière y Pasitschniak-Arts, 1996).

En el estudio realizado sobre la población de zorros en Galicia, se observan los siguientes resultados: el 39,86% de la población eran jóvenes, el 45,19% adultos y el 14,95% gerontes, por lo que ha de pensarse que se trata de una población sin excesiva presión de extracción (Fidalgo et al., 2009).

En relación al porcentaje de sexos dentro de una población, la mayoría de los estudios muestran una relación macho/hembra próxima a la unidad, pudiendo oscilar algo en función de la época del año en que se realice el muestreo (Vos, 1995; Chalon et al., 1998; Fidalgo et al., 2010).

### 3.1.9.c. Parámetros reproductivos

El estudio de estos datos es fundamental para entender la dinámica de una población silvestre, ya que permite conocer la natalidad, siendo de gran utilidad para determinar la capacidad de compensar las extracciones de ejemplares de la población. Estas estimaciones se obtienen mediante técnicas centradas en la observación del tracto reproductivo de las hembras, entre las cuales se encuentran el recuento de cicatrices placentarias, fetos y/o cuerpos lúteos. Con los resultados obtenidos se puede estimar la época reproductiva, el tamaño de la camada, el número de camadas por año y el porcentaje de la población que es reproductivamente activa (MMA, 2006).

En el estudio realizado sobre la población vulpina del Parque Nacional de Doñana se obtuvieron los siguientes resultados (MMA, 2006):

- Tamaño de camada: entre 3,083 (recuento de cicatrices placentarias) y 3,871 (conteo de cuerpos lúteos).
- Ciclo estral: el estudio mostró que en esta región la ovulación tiene lugar en enero.
- Proporción de hembras que crían: las hembras menores de un año no criaron, mientras que sí lo hicieron el 100% de las adultas y tan sólo el 50% de las gerontes.

Los datos obtenidos de tamaño de la camada en el Parque de Doñana son inferiores a los observados en otros estudios, lo cual podría deberse a que la población en este caso está estabilizada en una densidad alta (Vos, 1995; McIlroy et al., 2001; MMA, 2006).

### 3.1.9.d. Morbilidad y mortalidad

El esquema vital de la población vulpina se caracteriza por presentar una elevada mortalidad de cachorros e individuos jóvenes, y una baja mortalidad de animales adultos. Aunque los datos demográficos varían notablemente entre distintos núcleos poblacionales, aproximadamente el 75% de los zorros muere en su primer año de vida; a partir de este momento la mortalidad de un animal adulto es de aproximadamente un 50% (Ballesteros, 1998; IUCN, 2004).

Algunos zorros pueden vivir por encima de los ocho años en estado salvaje (se citan casos de animales que llegan a los 12 años), aunque se estima que llega a esta edad tan sólo uno de cada 10.000 ejemplares. Pocos son los que viven 6 años y la mayor parte no pasa del primer invierno. En las zonas rurales europeas se considera que el grueso de la población no alcanza los tres años (Blanco, 1998).



En un estudio realizado en EE.UU. observaron que las causas más frecuentes de ingreso en el centro de recuperación de fauna salvaje de Virginia fueron: la orfandad (33%), los traumatismos (27%), la sarna sarcóptica (17%), y otras de etiología no determinada (23%) (Kelly y Sleeman, 2003). Los zorros urbanos, debido a su mayor densidad poblacional, son más susceptibles a padecer epizootias o enfermedades infectocontagiosas como la sarna sarcóptica (Soulsbury et al., 2007). Por otra parte, el incremento de la densidad de la población del zorro supone otorgar a esta especie un papel epidemiológico de gran importancia dada su cercanía al entorno humano y ganadero, convirtiéndose en un potencial reservorio de agentes infectocontagiosos (Richards et al, 1993; Willingham et al., 1996).

Entre las enfermedades que padecen los zorros deben citarse en primer lugar la rabia y la sarna, tanto por la importancia zoonótica de la primera, como por ser ambas los procesos que históricamente más han castigado a esta especie (Palomo et al., 2007; WHO, 2010). En 2013 tiene lugar el primer caso de rabia en un perro en España peninsular tras más de 30 años sin casos registrados (OIE, 2013).

Otra enfermedad vírica importante para el zorro es el moquillo canino. Los estudios epidemiológicos realizados en zorros y lobos en España indican que el contacto con el virus del moquillo canino es habitual en nuestro país, pudiendo existir diferencias notables entre las distintas regiones (Sobrino et al., 2008). La parvovirus canina, enfermedad habitual en el perro, muestra una seroprevalencia muy variable en el caso del zorro en las distintas regiones estudiadas. Algunos autores afirman que el zorro en condiciones de vida libre es resistente a la parvovirus, aunque posiblemente no lo sea al virus de la panleucopenia felina (Artois, 1989; Truyen, 2000; Sobrino et al., 2008).

Entre los agentes infecto-contagiosos que pueden afectar al zorro merecen citarse *Cryptosporidium spp.*, *Giardia spp.* y micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, participando además como reservorios en otras epizootias, como la paratuberculosis y salmonelosis (Beard et al., 2001; Machackova et al., 2004; Millán et al., 2004; Appelbee et al., 2005; Martín-Atance et al., 2005 y 2006; Polley, 2005; Millán et al., 2008).

El zorro es hospedador de un gran número de parásitos, algunos de ellos con gran importancia en sanidad animal y humana. La enfermedad más relevante desde el punto de vista zoonótico es la equinocosis o hidatidosis, causada por el cestodo *Echinococcus granulosus* (Fernández de Luco et al., 1997; Sobrino et al., 2006). Además, debido a sus hábitos alimentarios, el raposo es el principal reservorio de *Trichinella spp.* en el medio salvaje y, por tanto, es un buen indicador de la presencia de este parásito en el medio natural (Davidson et al., 2006). También puede ser hospedador definitivo de otros parásitos que, si bien no son causa de zoonosis, tienen importantes repercusiones sanitarias y económicas en especies ganaderas y silvestres (Gortázar et al., 1998; Criado-Fornelio et al., 2000).



### 3.1.9.e. Estado de conservación y de protección

Atendiendo a la lista roja de especies protegidas elaborada por la Unión Mundial para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), se considera que el zorro común es una especie con bajo riesgo, es decir, ha sido evaluada y los resultados no indican que haya razones para considerarla en alguna de las categorías más preocupantes. Con excepción de los animales domésticos y el ser humano, no comprendidos en la clasificación, todas las especies no amenazadas se encuentran en esta categoría de bajo riesgo. Ello implica que no requiere medidas especiales de protección y su aprovechamiento cinegético está regulado legalmente (IUCN, 2013).

En la Unión Europea, Canadá y Rusia, los métodos de captura están regulados por medio de un acuerdo internacional firmado por estos países en 1997 (IUCN, 2004). En España existe normativa en la cual se describe al zorro como especie objeto de caza y como especie comercializable, entre las cuales se pueden citar el Real Decreto 1095/1989, el Real Decreto 1118/1989 o la Ley 10/2002 entre otras.

## 3.2. ECOTOXICOLOGÍA Y BIOMONITORIZACIÓN AMBIENTAL

La Ecotoxicología es una rama de la Toxicología y podría definirse como la ciencia que busca identificar los problemas derivados de la presencia de las más de 45.000 sustancias químicas conocidas en el medio ambiente y en los seres vivos, así como los efectos que estos productos ejercen sobre los mismos. La Ecotoxicología es, por lo tanto, la ciencia que estudia el origen de los contaminantes, su transporte entre los distintos compartimentos ambientales, las transformaciones que sufren dichos contaminantes y, finalmente, los efectos que producen sobre el ecosistema (Marín, 2007). Por tanto, trata de identificar, evaluar, solucionar y predecir los efectos que los agentes químicos pueden tener en nuestro entorno, pretendiendo evitar los efectos negativos sobre el ecosistema, que en definitiva repercutirán tanto en la población humana como en sus producciones animales.

Dentro de los compuestos estudiados por la Ecotoxicología, los metales pesados ocupan un lugar destacado, tanto por su elevada persistencia en el medio ambiente como por su alta toxicidad en todos los organismos vivos (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

Actualmente se considera que no existe en nuestro planeta ningún ecosistema libre de los efectos de la actividad humana, llegando los productos derivados de ésta a zonas muy alejadas de cualquier núcleo habitado por personas, debido a su dispersión por las masas de aire, corrientes marinas o fluviales, así como por acción de otros fenómenos naturales (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

El problema radica en el desconocimiento, en muchos casos, de la peligrosidad real de las sustancias liberadas debido a la mano del hombre (Lagadic et al., 1998). Por ello son imprescindibles estudios y técnicas capaces de evaluar la salud de los distintos ecosistemas y de detectar

precozmente los problemas asociados a la presencia de estos xenobióticos en el ambiente, a fin de poder desarrollar programas de control y gestión medioambiental efectivos (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

La cuantificación de los niveles de estas sustancias químicas en el suelo, agua o aire no es suficiente si la pretensión es obtener una información fiable para tomar unas medidas correctivas eficaces, ya que no permite evaluar los efectos concretos sobre los organismos vivos ni obtener datos sobre factores como la biotransformación o biodisponibilidad, entre otros. Y será en este campo donde surge el concepto de biomonitorización que se entiende como el proceso de medición cuali o cuantitativo de los agentes químicos exógenos, sus metabolitos o sus productos de reacción en distintos tipos de muestras biológicas (sangre, orina, tejido graso, pelo en animales o tallos, hojas y rizomas en las plantas) de las poblaciones que se desea monitorizar (Needham et al., 2007). En este sentido la biomonitorización es uno de los caminos más directos para la estimación de las concentraciones de los más diversos compuestos químicos en el organismo vivo y en el ecosistema en su conjunto, pudiendo ser utilizada para:

- Determinar los niveles de contaminación de la población a estudio directamente del ecosistema.
- Estudiar los patrones de evolución que van a presentar estos contaminantes en el futuro.
- Identificar la aparición de nuevos contaminantes en un ecosistema.
- Permitir el desarrollo de actividades de priorización de lucha ambiental a partir de los resultados obtenidos.
- Establecer, en resumen, si las medidas de control de los agentes químicos están siendo efectivas.

Gracias a esta nueva herramienta, es posible recoger y analizar gran cantidad de información sobre los efectos de los agentes químicos en los seres vivos a lo largo de su existencia. Esto permite, así mismo, hacer comparaciones entre distintos estados fisiológicos, pues se dispone de datos del organismo a lo largo del tiempo, de modo que, a su vez, la información obtenida puede servir para predecir futuros cambios medioambientales que lleguen a ser importantes para el conjunto del ecosistema (Moreno, 2003; Kolf-Clauw et al., 2007; De la Casa, 2010).

Es en este campo donde la Ecotoxicología ha desarrollado el concepto de “programas de biomonitorización”, en los que se utilizan distintos bioindicadores, que por definición serán organismos vivos que, por sus características ecológicas, presentan una elevada sensibilidad a los cambios ambientales y reaccionan ante ellos como si fueran estímulos específicos (Capó, 2002). Son especies, por tanto, capaces de acumular contaminantes traza a unos niveles tales que permiten su

puesta en evidencia mucho antes que si esa monitorización se realizara directamente sobre muestras abióticas (Spahn y Sherry, 1999).

### 3.2.1. ELECCIÓN DE UN BIOINDICADOR

Como se ha indicado anteriormente, la característica principal que debe cumplir una especie bioindicadora es que reaccione con elevada sensibilidad a los cambios que acaecen en el ecosistema a estudiar (Markert et al., 2003). No obstante, las particularidades individuales pueden influir de manera decisiva en la interpretación de los resultados, lo cual se tendrá en cuenta también a la hora de seleccionar un bioindicador (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

Los bioindicadores son, por lo tanto, sensibles a los cambios ambientales y reaccionan ante ellos como si fueran estímulos específicos. No obstante, los cambios que experimentan dichos organismos, en muchas ocasiones, pueden verse modificados por las características individuales de la especie elegida, dando lugar a errores. Es por ello que se hace necesario considerar no sólo las características que como especie se deben cumplir para ser bioindicador, sino también los aspectos individuales de dicha especie a la hora de establecer su utilidad como tal (Capó, 2002).

Las características que debe cumplir un bioindicador según Tataruch y Kierdorf (2003) deben ser las siguientes:

- Representatividad espacial: las especies han de habitar una extensión geográfica lo suficientemente amplia, que permita realizar comparaciones a gran escala. Así, habrá que hacer investigaciones previas para determinar si las condiciones ecológicas influyen de alguna manera en el contenido o efecto del tóxico. También deben existir suficientes individuos en el área considerada.
- Disponibilidad y accesibilidad para la recolección de especímenes e idoneidad experimental: tanto el tamaño como el número de individuos debe ser suficientemente grande como para poder llevar a cabo la toma de muestras para el análisis en el laboratorio. Además debe ser posible manipular las especies con facilidad para corroborar en el laboratorio las conclusiones que se hayan tomado sobre el terreno.
- Representatividad ecológica: debe existir una correlatividad entre el contenido de contaminante en el animal y la concentración efectiva de este agente en la cadena trófica y, por tanto, en el ecosistema.
- Sensibilidad: la población debe ser tolerante a los contaminantes estudiados y, al mismo tiempo, sensibles a los mismos. La especie debe acumular el contaminante sin fallecer ni ver alterada su reproducción.

- Longevidad de la especie, permitiendo evidenciar fenómenos de toxicidad a largo plazo.
- Reproducibilidad de la recogida de individuos: los procedimientos de recogida de individuos deben ser estandarizados para que sea posible la comparación con estudios que utilizarán las mismas especies pero en diferentes áreas.
- Semejanza a los humanos: dado el papel que van a realizar los bioindicadores como centinelas de los riesgos para la salud humana, es necesario que compartan un cierto grado de semejanzas fisiológicas.

Sin embargo, debe considerarse que son pocas las especies que cumplen los requisitos aquí indicados, por ello se hace necesario elegir a aquellas que cumplan la mayoría (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

TIPOS DE BIOINDICADORES	
<b>Grado de sensibilidad</b>	-Muy sensibles -Sensibles -Poco sensibles -Resistentes
<b>Forma de respuesta</b>	-Detectores -Exploradores -Centinelas -Acumuladores -Organismos test o bioensayo
<b>Posibilidad de medida</b>	-Bioindicadores en sentido estricto -Biomonitores: por reacciones manifiestas o por acumulación -Biomonitores: pasivos (naturales) o activos (transplantes)

**Tabla 4.** Tipos de bioindicadores (adaptada de Capó, 2002; De la Casa, 2010).

### 3.2.2. APTITUDES DE LOS MAMÍFEROS SALVAJES TERRESTRES COMO BIOINDICADORES

Diversos estudios científicos han probado que los mamíferos salvajes resultan especialmente útiles como bioindicadores, por poseer una serie de características importantes (Tataruch y Kierford, 2003) como son:

- ✓ De ellos se conocen más parámetros fisiológicos y más preferencias alimenticias que de otros seres vivos.
- ✓ Las técnicas para la determinación de la edad son más fiables.
- ✓ El tamaño es mayor que en otras especies, proporcionando una cantidad de muestra suficiente para los distintos procedimientos.

- ✓ En la mayoría de los casos, se trata de ejemplares muertos en actividades cinegéticas, por lo que no es necesario ni su cría ni su sacrificio específico para la toma de muestras.
- ✓ Acumulan metales traza y otros contaminantes de forma activa desde el medio, parámetros que no siempre se pueden utilizar en plantas.
- ✓ Debido a su longevidad, los efectos de una determinada exposición pueden ser estudiados a lo largo del tiempo.
- ✓ Los humanos somos mamíferos, por lo tanto, los resultados obtenidos pueden ser extrapolados a la población humana, permitiéndonos estudiar determinados riesgos.

Deben ser citados también diversos inconvenientes no menos importantes, como son (Hermoso de Mendoza et al., 2008; De la Casa, 2010):

- Los niveles de contaminantes en los tejidos dependen de factores endógenos tales como la edad o el sexo, pero los factores exógenos son determinantes a la hora de elegir una especie como bioindicadora. Para poder determinar estos últimos se necesita un estudio previo con gran cantidad de individuos.
- El muestreo, en caso de órganos internos, implica el sacrificio del animal, así que sólo es posible una única toma de muestras por individuo.
- A pesar de todo, tal y como ya se ha indicado, los mamíferos son uno de los grupos biológicos que presentan mejores características a la hora de actuar como bioindicadores, reflejando fielmente la contaminación presente en su hábitat, ya sea en la comida, agua, suelo, aire, etc., obteniendo una serie de datos que nos permiten actuar en consecuencia.

### **3.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CONTENIDO DE METALES PESADOS EN LOS MAMÍFEROS SILVESTRES EN GENERAL Y EN EL ZORRO EN PARTICULAR**

#### **3.3.1. HÁBITAT Y ESTACIONALIDAD**

El hábitat es decisivo a la hora de seleccionar una especie como bioindicador y así, los animales que viven cerca de núcleos de población humana son un reflejo de la contaminación que caracteriza esa zona. Los ejemplares que viven en zonas alejadas de estos núcleos son de gran utilidad para detectar pequeños cambios debidos a la contaminación difusa (Frank, 1986).

Las variaciones en el área geográfica que habitan los animales así como las condiciones climáticas están directa o indirectamente relacionadas con el comportamiento, morfología (ecotipo), fisiología y reproducción de estas especies. Un ejemplo es el contenido en cadmio, que depende en

gran medida de las características del suelo y así, aquellos mamíferos que vivan en suelos con un pH ácido muestran un contenido más elevado de este elemento que los que habitan en suelo calizo (Tataruch y Kierdorf, 2003).

También la estacionalidad condiciona la selección de un bioindicador y la interpretación de los resultados. Las mayores concentraciones de metales pesados en el pelo se detectan a finales de verano y en otoño (Flynn et al., 1977), motivado por la actividad estacional del folículo piloso y la elevada disponibilidad de metales en las hojas (White et al., 1987).

### **3.3.2. ALIMENTACIÓN**

La dieta influye de forma decisiva en la concentración de diversos contaminantes. Así, los herbívoros (consumidores primarios), al poseer una dieta con una baja densidad calórica, son más adecuados para su uso como bioindicadores. Estos consumidores primarios ingieren grandes cantidades de comida, incorporando por tanto, una mayor cantidad de sustancias potencialmente tóxicas, mientras que los carnívoros (consumidores secundarios) ingieren alimentos con una elevada densidad calórica, por lo que la cantidad de alimento ingerida es más reducida y como consecuencia, acumulan menos cantidad de sustancias tóxicas en el organismo (Funke et al., 1993).

Así pues, los herbívoros estrictos están expuestos a ciertos metales pesados como el plomo o el cadmio por ingestión de plantas, frente a los carnívoros, que incorporan estos metales mediante la magnificación producida en la cadena trófica (Gamberg et al., 2005). De hecho, la contaminación por plomo en los herbívoros no sólo se debe al contenido en plomo de la materia vegetal, sino también por el hecho de que estos animales están mucho más expuestos a las partículas del suelo que otras especies. En cuanto al cadmio, los niveles de este metal en los órganos de los grandes carnívoros son generalmente muy bajos, lo que podría deberse a la reducida acumulación de este elemento en el músculo, que representa la mayor parte de la comida de los carnívoros (Tataruch y Kierdorf, 2003).

### **3.3.3. SEXO**

La acumulación y metabolismo de diversos elementos y compuestos químicos varía en función del género y también está influenciado por el estado reproductivo del animal; es por ello indispensable en estudios de Ecotoxicología examinar el estado reproductivo y la edad de los ejemplares incluidos en los mismos (Burger et al., 2007).

Un ejemplo de lo expuesto anteriormente es la influencia del sexo en los niveles de cadmio y así ha sido demostrada en varias especies, que las hembras presentan concentraciones más elevadas de cadmio que los machos, probablemente como consecuencia de la ingesta de una mayor cantidad de comida por kilogramo de peso en el caso de las hembras (Tataruch y Kierdorf, 2003).

### 3.3.4. EDAD

La edad del animal es un factor importante en la acumulación de contaminantes, especialmente cuando se trata de xenobióticos bioacumulables, ya que determina la duración de la acumulación en el organismo animal (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

El metal pesado típico cuyo contenido se incrementa con la edad es el cadmio, debido a la prolongada vida media del cadmio en los riñones. Así, para poder interpretar correctamente los resultados analíticos hay que tener en seria consideración la edad de los individuos (Tataruch y Kierdorf, 2003).

Aunque la determinación de la edad en la fauna salvaje es difícil y la mayor parte de las veces imprecisa, deberían ser comparados los resultados de animales pertenecientes al mismo grupo de edad para obtener unas conclusiones válidas en el caso de los metales pesados (Tataruch y Kierdorf, 2003).

### 3.3.5. EL ZORRO COMO BIOINDICADOR

A continuación se expone una revisión de los estudios en los que se recogen datos referentes a la concentración de metales pesados en diversos mamíferos salvajes mediante el empleo de métodos destructivos y no destructivos. Es importante destacar que ambas técnicas son válidas, si bien las no destructivas (en inglés NDT, de *non destructive testing*) evitan las implicaciones éticas y ecológicas del muestreo destructivo. En la mayoría de las especies protegidas el sacrificio del animal, aunque de forma controlada, puede provocar más daño que el propio compuesto tóxico a estudiar y en estos casos debe plantearse el empleo o desarrollo de técnicas no destructivas siempre que demuestren ser eficaces (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

Directamente relacionado con esto, las técnicas de muestreo invasivas o no invasivas hacen referencia al grado de daño que se infringe al animal al realizarlas. Así, en el caso concreto de fauna silvestre son especialmente interesantes las técnicas de muestreo cuanto menos invasivas mejor (detección de contaminantes por ejemplo en orina, heces o saliva) en las cuales la integridad física del animal no se vea alterada y tampoco se genera un estrés innecesario sobre el mismo. No obstante, a veces, hay que recurrir a técnicas invasivas (extracción de sangre y otras muestras biológicas) y, en casos extremos, las técnicas a emplear pueden requerir la muerte del animal (por ejemplo si se precisa la necropsia) (Heymann et al., 2004; Brousset et al., 2005).

Una importante ventaja de los métodos no destructivos es que se pueden tomar muestras seriadas en la misma población e individuos, además de la mayor facilidad de muestreo, transporte y



almacenamiento de las muestras, así como un menor estrés para la población en estudio (Fossi y Leonzio, 1993). La realización de análisis mediante técnicas destructivas está regulada legalmente, indicando la normativa el número de ejemplares que se pueden emplear, el protocolo a seguir, las especies aptas para este tipo de estudios y también las medidas y controles que se deben llevar a cabo (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

En la tabla 5 adjunta se exponen los contenidos de metales pesados obtenidos en diversos trabajos científicos en diferentes mamíferos terrestres por métodos destructivos, adaptada del estudio desarrollado por Hermoso de Mendoza et al. (2008).

En el estudio realizado por Dip y colaboradores (2001), se determinaron los niveles de metales pesados en zorros y se evaluó si existían diferencias significativas en zorros en función del área donde habitaban, diferenciando las áreas urbanas de las suburbanas y rurales, llegando a las siguientes conclusiones:

- Los individuos de zonas urbanas son los que presentaban mayores niveles de plomo en riñón e hígado.
- El nivel de cadmio era más elevado en zonas suburbanas que en las urbanas, aumentando de forma progresiva con la edad, al igual que ocurre en otras especies.

Entre las conclusiones obtenidas en este estudio cabe destacar la idoneidad que los autores otorgan a esta especie como bioindicador para detectar la presencia de algunos compuestos tóxicos, especialmente en zonas urbanizadas.



Órgano	Especie	Metal	Concentración	Referencia
Hígado	Carnívoros			
	Zorro ártico ( <i>Alopex lagopus</i> )	Cd	0,18 ± 0,03 µg/g	Hoekstra et al., 2003
		Cu	7,1 ± 0,49 µg/g	
		Fe	344 ± 16 µg/g	
		Mn	3,7 ± 0,16 µg/g	
		Pb	0,53 ± 0,10 µg/g	
		Se	0,88 ± 0,12 µg/g	
		Zn	29 ± 1,8 µg/g	
	Lobo ( <i>Canis lupus</i> )	Hg	30 µg/g	Shore et al., 2001
	Oso polar ( <i>Ursus maritimus</i> )	Cd	0,120 – 1,98 µg/g 1,88 µg/g (ps)	Dietz et al., 2000 Woshner et al., 2001
		Hg	2,13 – 22,0 µg/g 1,1 – 35,6 µg/g	Dietz et al., 2000 Sonne et al., 2007
		Se	1,20 – 9,80 µg/g	Dietz et al., 2000
		Zn	42,9 – 67,6 µg/g	
	Zorro común ( <i>Vulpes vulpes</i> )	As	0,38 ± 0,38 mg/kg 0,047 µg/g peso húmedo	Piskorova et al., 2003 Millán et al., 2008b
		Cd	0,52 ± 0,51 mg/kg 0,21 ± 0,12 mg/kg 0,10 ± 0,02 mg/kg 0,113 µg/g peso húmedo	Dip et al., 2001 Piskorova et al., 2003 Alleva et al., 2006 Millán et al., 2008b
		Cu	20,2 ± 18,8 mg/kg 72,0 µg/g peso húmedo	Dip et al., 2001 Millán et al., 2008b
		Hg	0,22 ± 0,23 mg/kg 0,03 ± 0,01 mg/kg 0,393 µg/g peso húmedo	Piskorova et al., 2003 Alleva et al., 2006 Millán et al., 2008b
		Pb	1,20 ± 3,61 mg/kg 0,35 ± 0,12 mg/kg 0,37 ± 0,03 mg/kg 0,257 µg/g peso húmedo	Dip et al., 2001 Piskorova et al., 2003 Alleva et al., 2006 Millán et al., 2008b
		Zn	44,9 ± 16,7 mg/kg 136,7 µg/g peso húmedo	Dip et al., 2001 Millán et al., 2008b
	Perro ( <i>Canis lupus familiaris</i> )	As	10,4 – 12,7 µg/g	López-Alonso et al., 2006
		Cd	51,2 – 62,0 µg/g	
		Hg	28,5 – 37,4 µg/g	
		Pb	54,1 – 66,9 µg/g	
		Co	15,0 – 17,7 µg/g	
		Cu	38,7 – 45,9 mg/kg	
		Fe	371 – 420 mg/kg	
		Mn	2,23 – 2,55 mg/kg	
		Se	0,642 – 0,730 mg/kg	
		Zn	44,4 – 49,2 mg/kg	
	Omnívoros			
	Jabalí ( <i>Sus scrofa</i> )	As	0,21 ± 0,36 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Cd	0,28 ± 0,23 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Cr	0,28 ± 0,16 mg/kg 0,15 ± 0,12 mg/kg	Gallego, 2006 Piskorova et al., 2003
		Hg	0,24 ± 0,2 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Pb	0,24 ± 0,1 mg/kg 2,61 ± 8,35 mg/kg	Piskorova et al., 2003 Gallego, 2006

**Tabla 5.** Contenido en metales pesados cuantificados en diferentes especies de mamíferos terrestres mediante métodos destructivos.

Órgano	Especie	Metal	Concentración	Referencia
Riñón	Carnívoros			
	Oso polar ( <i>Ursus maritimus</i> )	Cd	2,16 – 28,9 µg/g 37,76 µg/g (p.s)	Dietz et al., 2000 Woshner et al., 2001
		Hg	2,87 – 32,0 µg/g 1 – 50 µg/g	Dietz et al., 2000 Sonne et al., 2007
		Se	2,34 – 13,9 µg/g	Dietz et al., 2000
		Zn	19,7 – 41,0 µg/g	
	Zorro común ( <i>Vulpes vulpes</i> )	As	0,3 ± 0,28 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Cd	1,45 ± 1,43 mg/kg 0,25 ± 0,08 mg/kg	Dip et al., 2001 Piskorova et al., 2003
		Cr	0,29 ± 0,16 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Cu	6,3 ± 4,1 mg/kg	Dip et al., 2001
		Hg	0,63 ± 0,51 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Pb	0,57 ± 0,90 mg/kg 0,38 ± 0,17 mg/kg	Dip et al., 2001 Piskorova et al., 2003
		Zn	21,2 ± 7,8 mg/kg	Dip et al., 2001
	Perro ( <i>Canis lupus familiaris</i> )	As	14,3 – 17,4 µg/g	López-Alonso et al., 2006
		Cd	147 – 188 µg/g	
		Hg	44,9 – 59,9 µg/g	
		Pb	21,2 – 26,2 µg/g	
		Co	19,7 – 22,4 µg/g	
		Cr	40,8 – 47,3 µg/g	
		Cu	5,63 – 6,28 mg/kg	
		Fe	91,2 – 100,4 mg/kg	
		Mn	0,925 – 0,988 mg/kg	
		Mo	0,346 – 0,367 mg/kg	
		Ni	25,2 – 28,6 µg/g	
		Se	1,35 – 1,43 mg/kg	
		Zn	25,1 – 26,9 mg/kg	
	Omnívoros			
	Jabalí ( <i>Sus scrofa</i> )	As	0,17 ± 0,22 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Cd	0,56 ± 0,69 mg/kg 2,16 ± 1,05 mg/kg	Piskorova et al., 2003 Gallego, 2006
		Cr	0,19 ± 0,11 mg/kg	Piskorova et al., 2003
		Hg	0,52 ± 0,42 mg/kg	
		Pb	0,39 ± 0,21 mg/kg 0,33 ± 0,32 mg/kg	Piskorova et al., 2003 Gallego, 2006

**Tabla 5 (cont.).** Contenido en metales pesados cuantificados en diferentes especies de mamíferos terrestres mediante métodos destructivos.

Por todo lo anteriormente comentado se puede considerar al zorro como una especie adecuada para su empleo como bioindicador a la hora de plantear estudios de ecotoxicidad, como el que se propone en la presente memoria de tesis doctoral ya que esta especie se caracteriza por:

- Población estable y abundante.
- Distribución homogénea en todo el territorio gallego.
- Tamaño corporal adecuado para tomar una cantidad suficiente de muestra.
- Especie silvestre bien conocida y estudiada.
- Se sitúa en la parte alta de la pirámide trófica.
- Especie cinegética legalmente regulada por lo que no son necesarias capturas ni sacrificio *ex profeso* para la investigación.
- Acceso a un número elevado de ejemplares abatidos todos los años que facilita estudios cronológicos comparativos.

### **3.4. METALES PESADOS: IMPLICACION MEDIOAMBIENTAL**

Toda materia, inorgánica y orgánica, está constituida por átomos, que corresponden a un gran número de sustancias elementales o elementos químicos, los cuales se clasifican atendiendo a diversos criterios: propiedades, lugar de descubrimiento, nombres científicos, etc (Picado y Álvarez, 2008). Es incierto el número total de elementos químicos existentes ya que seguramente algunos están por descubrir y otros citados en la bibliografía científica no han sido confirmados por la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) al ser descubiertos en condiciones de laboratorio (elementos sintéticos), siendo precisos estudios más detallados. Según los datos publicados por la IUPAC en 2007, se cita la existencia de 118 elementos químicos (algunos pendientes de confirmación) (Karol et al., 2001; Holden y Coplen, 2004; IUPAC, 2008).

Uno de los intentos más destacados para clasificar los elementos químicos descubiertos hasta entonces fue el trabajo desarrollado por el químico ruso Dimitri Ivanovich Mendeleev en su tabla periódica, la cual se basa en ordenar los elementos según sus propiedades químicas y, más importante aún, el haber pronosticado y adelantado las propiedades de elementos no descubiertos hasta entonces (Picado y Álvarez, 2008). Otros estudiosos siguieron los pasos de Mendeleev, como por ejemplo Lothar Mayer que estableció una clasificación atendiendo a las propiedades físicas o Henry Moseley que plasmó la ley periódica moderna, según la cual "las propiedades de los elementos químicos y sus compuestos son funciones periódicas del número atómico de los elementos",

ordenando los 105 elementos químicos en función de su número atómico (Picado y Álvarez, 2008; Reger et al, 2009).

Por definición, los elementos traza son los 80 elementos químicos que presentan una concentración en la corteza terrestre por debajo del 0,1%, para cada uno de ellos. En conjunto, todos no constituyen más del 0,6% del total, mientras que los 12 elementos mayores restantes (oxígeno, hierro e hidrógeno, entre otros), suponen un 99,4%. Dentro de este amplio grupo, algunos elementos traza son indispensables para el desarrollo de procesos biológicos esenciales, por lo cual son identificados como oligoelementos. A pesar de ello, estos minerales esenciales pueden ser también tóxicos para diversas formas de vida cuando sus concentraciones sean elevadas (o bien en función de las formas químicas en que se presenten). Es, por ejemplo, lo que ocurre con el cobre, el zinc o el cromo. Pero existe un segundo grupo de elementos traza cuya esencialidad no se ha demostrado y, por tanto, presentan un carácter potencialmente tóxico a dosis muy bajas. Dentro de éstos destacan especialmente: cadmio, mercurio y plomo (Kolf-Clauw et al., 2007).

Los elementos metálicos conforman la mayoría de elementos de la tabla periódica, siendo relativamente poco frecuentes en el medio natural; en general, los más abundantes corresponden a los pertenecientes a los primeros períodos de cada grupo. Así, los metales alcalinos y alcalinotérreos más ligeros (Na, K, Mg y Ca) son profusos, sobre todo en su forma catiónica, como especies muy solubles y están presentes en concentraciones relativamente elevadas en el medio hidrosférico. En el suelo, esos cationes ocupan sitios de intercambio en las fases sólidas, en equilibrio con el medio acuoso de la disolución del suelo (Doménech y Peral, 2006).

Respecto a los metales de transición, los más abundantes pertenecen a los períodos 3 y 4, los cuales forman parte de distintos minerales. Tal es el caso del Al, Mn, Fe, Cu, Zn y Ti. Se encuentran en fase sólida, particularmente como óxidos y aluminosilicatos. Aunque estos metales son relativamente frecuentes en el suelo y la litosfera, son muy poco solubles, de manera que la concentración en la hidrosfera es muy baja (Doménech y Peral, 2006).

Los elementos metálicos presentes en los sistemas acuosos a muy baja concentración se denominan elementos traza. Algunos de ellos son nutrientes esenciales para plantas y animales (Mn, Mo, Cu, Co, Zn, Se y V), mientras que otros elementos (Ni, Sn y Cr) son esenciales sólo para los animales. Es importante tener en cuenta que cuando estos elementos están presentes en sistemas ambientales a concentraciones superiores a ciertos niveles, bien como consecuencia de desequilibrios naturales o, sobre todo, debido a su introducción por mediación de la actuación humana, pueden resultar tóxicos para los seres vivos (Doménech y Peral, 2006).

En los últimos 20 años, el término de metales pesados se ha usado ampliamente en el campo de las ciencias ambientales asociado a un grupo de metales y semimetales (metaloideos) que causan un impacto ambiental debido a su potencial toxicidad o ecotoxicidad (Duffus, 2002; Doménech y Peral, 2006).

Es importante destacar que el término metal pesado no ha sido nunca definido por ninguna entidad con autoridad como la IUPAC. En los años 60 esta denominación empezó a emplearse en química, otorgándole numerosos significados por diferentes autores. Pero lo cierto es que no existe coherencia científica al no haber una relación entre la densidad y ninguna de las demás variables fisicoquímicas con los conceptos que se han empleado para definir los metales pesados y la toxicidad o ecotoxicidad que se les atribuye, haciendo que el término se haya quedado obsoleto (Duffus, 2002).

Al mismo tiempo que se acuña el término de metales pesados surgen regulaciones legales que especifican una lista de metales pesados para su aplicación. Estas listas pueden diferir entre unas normativas y otras ya que el término en cuestión, como se ha mencionado, no especifica cuales son los elementos químicos incluidos en este grupo. Existe una tendencia, no soportada en hechos, que asume que todos los metales pesados, denominados así, y sus compuestos son altamente tóxicos o ecotóxicos, no existiendo datos químicos o toxicológicos que lo avalen. Así pues, el término metal pesado se presupone que incluye todas las especies y compuestos con las mismas propiedades fisicoquímicas, biológicas y toxicológicas, pero esta afirmación no es cierta. En un futuro debería establecerse una nueva clasificación basada en la tabla periódica que refleje conocimientos químicos y datos toxicológicos que se puedan predecir (Duffus, 2002).

Aunque cada elemento químico presenta una serie de propiedades que lo caracterizan, existen otras comunes a todos los metales. Así por ejemplo, entre las propiedades físicas de los metales se citan (Picado y Álvarez, 2008):

- Sólidos a temperatura ambiente, a excepción del mercurio.
- Estructura cristalina.
- Muestran brillo metálico y reflejan la luz.
- Dúctiles y maleables.
- La mayoría presentan tenacidad.
- Conductividad de calor y electricidad.
- Punto de fusión y ebullición generalmente altos.
- Densidades variables, desde  $1 \text{ g/cm}^3$  hasta  $22,95 \text{ g/cm}^3$ .
- En la tabla periódica se localizan a la izquierda de la línea quebrada que va del astato al boro.

Así mismo, entre las propiedades químicas de los metales se pueden enumerar las siguientes (Picado y Álvarez, 2008):

- Sus átomos disponen de 1, 2 ó 3 electrones en su última capa, pudiendo perderlos dando lugar a la formación de iones.
- Sus moléculas son monoatómicas.
- Se combinan con los no metales formando sales.

- Se combinan con el oxígeno formando óxidos, los cuales al reaccionar con el agua forman hidróxidos.
- Se combinan con otros metales formando aleaciones.

A pesar de las discrepancias entre los diversos autores, Doménech y Peral (2006) consideran que los metales pesados son aquellos elementos químicos con una densidad superior a  $6 \text{ g/cm}^3$ , aproximadamente y así, prácticamente todos los metales de transición pueden considerarse metales pesados. Excepciones a esta definición son el Ti, con una densidad inferior ( $4,5 \text{ g/cm}^3$ ), pero que también se considera un metal pesado y el As que, a pesar de ser considerado como un no-metal, por su elevada densidad ( $5,7 \text{ g/cm}^3$ ) y por algunas propiedades de carácter ambiental se suele clasificar también como metal pesado. Otros autores definen los metales pesados como aquellos cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor a la del agua (Fergusson, 1990; Harte et al., 1991).

Los metales pesados considerados más importantes, tanto por su efecto tóxico como por ser imprescindibles para los seres vivos, son: As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sn y Zn (Fergusson, 1990; Harte et al., 1991).

Aunque la concentración de metales pesados procedentes de la meteorización química de las rocas y capaces de entrar en los ciclos naturales, se encuentra en un estado estacionario a escalas cortas de tiempo, no ocurre lo mismo con la emisión antropogénica, la cual provoca un incremento continuo de la concentración ambiental de algunos de estos metales pesados (Doménech y Peral, 2006).

A continuación se detallan algunas de las numerosas fuentes antropogénicas emisoras de metales pesados al medio ambiente (Doménech y Peral, 2006):

- ♦ Extracción de minerales: es una fuente importante de emisión de muchos metales, en especial de As, Cd, Cu, Ni, Pb y Zn, tanto por su presencia en las minas como en los subproductos de la explotación minera.
- ♦ Fundición: el procesado del mineral para obtener el metal correspondiente constituye una fuente de emisión de metales, principalmente a la atmósfera en forma de pequeñas partículas sólidas. Esta fuente emisora es relevante para los elementos más volátiles, como por ejemplo As, Cd y Pb.
- ♦ Industria metalúrgica: emite metales en forma de partículas de aerosol como consecuencia del procesado térmico de los metales. Igualmente, se generan residuos sólidos con un alto contenido en diversos elementos metálicos, particularmente Cr, Cu, Mn, Pb, Sb y Zn.
- ♦ Otras industrias: existen emisiones de estos compuestos en otro tipo de industrias como la electrónica (por el empleo de metales en semiconductores, contactos, circuitos eléctricos y baterías), industria de recubrimientos metálicos e industria química de pinturas, pigmentos, materiales plásticos, catalizadores y electrodos. Estas industrias

contribuyen notablemente a la emisión de metales tales como Cu, Sn, Cr, Cd, Ni, Hg, Pt, Ru, As, Sb, Se, Mo y Zn.

- ♦ Gestión de residuos: este tipo de actividad genera emisiones notables de metales en la incineración de residuos urbanos y en los lixiviados de los vertederos, así como en la disposición de lodos procedentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. En este apartado, son importantes las emisiones de Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn.
- ♦ Corrosión metálica: este fenómeno se asocia a la inestabilidad de los materiales expuestos al medio ambiente, originando la liberación de elementos metálicos como el hierro procedente de materiales de construcción, cobre y plomo de cañerías, cromo, níquel y cobalto del acero, cadmio y zinc de los recubrimientos protectores del acero, cromo y plomo de la degradación de pinturas, entre otros.
- ♦ Agricultura y ganadería: en estas actividades se liberan metales como As, Cu y Zn procedentes de los aditivos de la alimentación animal, los cuales emergen en los residuos generados por la explotación ganadera. Igualmente importante es la contaminación producida por la aplicación de fertilizantes a base de fosfatos y de compuestos fitosanitarios (pesticidas, herbicidas, etc.), que a lo largo de años de aplicación han dado lugar a emisiones de metales como As, Cu, Mn, Pb y Zn.
- ♦ Industria forestal y maderera: la emisión de este tipo de industrias proviene, principalmente, de productos empleados para la conservación de maderas y derivados afines, siendo los metales más comúnmente implicados As, Cr y Cu.
- ♦ Quema de combustibles fósiles: estos procesos originan la emisión de ingentes cantidades de metales que previamente están presentes en el combustible en pequeñas cantidades, y que se emiten incorporados en las cenizas de combustión. Tal es el caso de los elementos Cd, Zn, As, Sb, Se, Cu, Mn y V.

Según estimaciones realizadas por Nriagu y Pacyna (1988), el total de emisiones de metales traza al medio hidrosférico suma un valor de  $10^9$  kg/año, siendo las principales fuentes de emisión el vertido de aguas residuales domésticas, las plantas térmicas, las fundiciones y las industrias de producción de acero. Los metales que se emiten en mayor cantidad son Mn y Zn, con flujos de emisión estimados de alrededor de  $200-260 \times 10^9$  kg/año. El orden de flujos de emisión de metales a la hidrosfera es el siguiente (Doménech y Peral, 2006):

$$\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cr} > \text{Pb} > \text{Ni} \sim \text{Cu} > \text{Se} \sim \text{As} > \text{Sb} > \text{V} \sim \text{Mo} \sim \text{Cd} > \text{Hg}$$

Las emisiones de metales traza al medio telúrico son superiores a las de la hidrosfera. Las estimaciones cifran el flujo de emisión al suelo en  $6,5 \times 10^9$  kg/año, siendo las fuentes más relevantes la deposición de cenizas procedentes de la combustión de carburantes fósiles, las debidas a fenómenos de corrosión y su dispersión debida al empleo de pesticidas y fertilizantes que contienen metales pesados en su formulación. Al igual que en la hidrosfera, las principales emisiones



corresponden a Mn y Zn, con valores estimados en  $1.300-1.700 \times 10^9$  kg/año. El orden de flujos de emisión al medio terrestre es el que se presenta a continuación (Doménech y Peral, 2006):



Además de la liberación y concentración de estos elementos en medios acuáticos y terrestres, presentan gran importancia los fenómenos de bioacumulación, los cuales se deben, fundamentalmente, a la imposibilidad, por parte del organismo afectado, de mantener los niveles necesarios de excreción del contaminante, produciéndose la retención del mismo en el interior del organismo y originando efectos de diversa consideración (Ramos et al., 2002). A modo de resumen, pueden destacarse algunas situaciones (varias de ellas ya nombradas con anterioridad en este estudio) que han causado un marcado incremento en la contaminación metálica en el entorno, pudiendo afectar a la exposición a que se ven sometidos todos los seres vivos (Kolf-Clauw et al., 2007):

- Las zonas destinadas a la viticultura y a la silvicultura, tanto en la actualidad como hace algunos años, están muchas veces afectadas por altos niveles de cobre, en ocasiones en cantidades realmente alarmantes (Mirlean et al., 2005). Los tratamientos repetidos con el caldo bordelés (combinación de sulfato cúprico y cal hidratada), por ejemplo, dentro de la metodología habitual de lucha contra el mildiu, se han efectuado desde hace más de un siglo.
- Los suelos explotados para cultivos intensivos muy especializados pueden haberse contaminado por ciertos fitosanitarios que posean en su composición zinc, mercurio, plomo, arsénico o cobre, o bien a partir de fertilizaciones intensas (cadmio).
- En algunas parcelas en que se han extendido lodos muy cargados con metales pesados, especialmente a lo largo de los años 60 y 70, cuando todavía no existía una legislación restrictiva y protectora a tal efecto.
- Los suelos situados en la proximidad de algunas industrias metalúrgicas, explotaciones mineras o instalaciones contaminantes (como incineradoras, fábricas de reciclado del plomo, etc.). Se trataría de contaminaciones aerógenas de origen cercano.
- También el empleo a altas dosis de purines de porcino sobre los terrenos agrícolas (Bolan et al., 2003, Bolan y Duraisamy, 2003), por tratarse de una actividad no exenta de implicaciones toxicológicas al elevar considerablemente los valores de cobre y zinc del terreno.

### 3.4.1. ZINC

Su descubridor, en 1746, fue Andreas Marggraf, pero sería Paracelso el que le da el nombre, el cual proviene del vocablo alemán *zinke*, que significaba púa en alemán antiguo, ya que este metal se depositaba en los hornos en forma de púas (Hernández, 2006).



### 3.4.1.a. Propiedades fisicoquímicas

Es un metal de transición que aparece de forma natural como parte de la corteza terrestre en un 0,02% y su principal mineral es la blenda (Martí et al., 2002). Se conocen 15 isótopos, cinco de los cuales presentan una masa atómica de 64, 66, 67, 68 y 70, pero aproximadamente la mitad del zinc se encuentra como isótopo 64. Se trata del cuarto metal más empleado por el hombre debido, en parte, a su asequible precio y a que es un elemento relativamente no tóxico (Gupta, 2007).

<b>Número atómico</b>	30
<b>Punto de fusión</b>	419,50°C
<b>Punto de ebullición</b>	908,00°C
<b>Solubilidad</b>	Insoluble
<b>Presión de vapor</b>	1 mmHg (487°C)
<b>Valencias</b>	2
<b>Masa atómica</b>	65,38 g/mol
<b>Densidad</b>	7,14 g/ml (25°C)

**Tabla 6.** Propiedades fisicoquímicas del zinc (Martí et al., 2002; ATSDR, 2008).

### 3.4.1.b. Fuentes de zinc

Se pueden detectar niveles de zinc en el aire, suelo y agua, estando presente en todos los alimentos. Además, juega un papel fundamental en el desarrollo de las funciones biológicas y enzimáticas, siendo un elemento esencial para el crecimiento y desarrollo normal de los seres vivos (Ogden et al., 1988; ATSDR, 2003; Hermoso de Mendoza et al., 2008). Cantidades elevadas pueden inducir trastornos orgánicos e intoxicaciones, como por ejemplo esterilidad en ratas (ATSDR, 2003); además, niveles elevados de zinc interfieren en la absorción de cadmio (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

Cierta parte del zinc es liberado al medio ambiente por procesos naturales, pero la mayor parte del metal proviene de actividades humanas tales como la minería, producción de acero, combustión del petróleo, incineración de residuos sólidos urbanos, etc. (Crespón, 2008).

El zinc presenta muchas aplicaciones comerciales, entre las cuales cabe destacar los revestimientos anticorrosión, aleaciones, fabricación de baterías secas, pinturas, caucho, tinturas y ungüentos, entre otros (Crespón, 2008). Existen diversos productos que contienen niveles elevados de zinc como son los recubrimientos galvanizados de hierro o acero (rejas, jaulas, transportines y vallas) (Talcott y Pettersson, 2001; Gupta, 2007), diversos componentes automovilísticos, baterías, fungicidas y

medicaciones tópicas (Talcott y Pettersson, 2001).

Se han descrito casos de perros con un historial de ingesta de cantidades elevadas de pomadas formuladas a base óxido de zinc, empleadas para combatir enfermedades cutáneas (Breitschwerdt et al., 1986; Osweiler, 1996). También se describen casos de intoxicación tras la ingesta de monedas que presentan en su composición zinc (96-98%) y cobre (2,5%) (Latimer et al, 1989), así como por el consumo de lociones de calamina, pinturas y champúes (Talcott y Pettersson, 2001). En el caso particular de la ingestión de monedas se observan cuadros de intoxicación subaguda, ya que en el medio ácido del estómago se libera lentamente zinc metálico (Gupta, 2007).

#### **3.4.1.c. Funciones y efectos tóxicos del zinc**

A nivel fisiológico presenta un gran interés ya que este metal es un oligoelemento con un importante rol en numerosos procesos metabólicos como en la actividad de la enzima anhidrasa carbónica. También se ha detectado su presencia en más de 200 complejos enzimáticos (metaloenzimas), como la fosfatasa alcalina, collagenasas, polimerasas, glutamato, lactato y alcohol deshidrogenasas y otras enzimas del metabolismo de las porfirinas, de los ácidos nucleicos y de los lípidos (Jurado, 1983; Ogden et al., 1988; Kaplan y Pesce, 1991; Gupta, 2007). Asimismo, interviene en el proceso de transferencia de información genética ya que participa en los procesos de síntesis de ADN y ARN (Jurado, 1983; Kaplan y Pesce, 1991).

El zinc es necesario en la replicación y diferenciación celular, en el sistema inmune, el metabolismo lipídico y glucídico, y también ayuda al normal funcionamiento de ciertos procesos hormonales. Participa en el crecimiento y la maduración sexual del individuo y ayuda en el mantenimiento de la actividad reproductora (es, por ejemplo, un componente de primera magnitud en el esperma y contribuye a elevar los niveles séricos de testosterona) (Brilla y Conte, 2000). Interviene así mismo en el sentido del gusto (Boukaïba et al., 1991) y en el de la visión. Este metal tiene efectos sobre el metabolismo y la fisiología de los tejidos epiteliales y conectivos, asociado a su efecto regulador de la biosíntesis de proteínas en general y del colágeno en particular (participando en la regeneración y recuperación de pequeñas lesiones musculares) (Rico y Pérez, 2011).

Desde el punto de vista de la salud animal, el zinc se estudia con mayor frecuencia por los efectos de su carencia que por los derivados de su exceso; de hecho, existen territorios en los que se recomienda la aplicación de fertilizantes con zinc para corregir las deficiencias de este elemento en los pastos y hacer viable la ganadería (Underwood, 1981). Así, la deficiencia de zinc puede ocasionar retraso del crecimiento, retraso mental, hipogonadismo, anorexia con alteraciones sensoriales (gusto y olfato), alteraciones cutáneas, deficiencias en la cicatrización y trastornos inmunológicos, así como perturbaciones en el metabolismo de la vitamina A, en la osificación, ocasionando cojeras y alteración en las faneras y en las plumas de las aves (Underwood, 1981; Lacroix, 1984, Kaplan y Pesce, 1991).

El zinc presenta importantes cualidades nutricionales, motivo por el cual es frecuente su adición como suplemento en alimentación animal, observándose problemas de toxicidad cuando se alcanzan niveles superiores a 1.000 ppm o incluso mayores (Osweiler, 1996; Gupta, 2007). En perros, la dieta habitual presenta una concentración de zinc que oscila entre 80 y 120 ppm sobre peso seco (Latimer et al., 1989).

La intoxicación por zinc ha sido descrita en perros, pero no en gatos, siendo la causa más probable su mayor discriminación a la hora de ingerir. Este proceso se caracteriza por una anemia hemolítica, trastornos gastrointestinales como consecuencia de una irritación directa y un fallo multiorgánico (Talcott y Pettersson, 2001).

La toxicidad del zinc depende en gran medida de la forma en la que éste se presenta y, así por ejemplo, las sales de zinc poseen una dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de aproximadamente 100 mg/kg de peso vivo en los casos de toxicidad aguda (Osweiler, 1996; Gupta, 2007), mientras que los óxidos de zinc, presentes en cremas solares y pomadas para controlar la erupción cutánea en bebés, son menos tóxicos. Los perros ingieren los productos cuando se les aplican de forma tópica. Se ha estimado la dosis tóxica en el perro en aproximadamente 108 gramos de zinc (Gupta, 2007).

Además del efecto irritante que origina el zinc sobre la mucosa gastrointestinal (Breitschwerdt et al., 1986; Gupta, 2007), la intoxicación aguda con zinc en cánidos se asocia a una anemia hemolítica y cambios morfológicos eritrocitarios que incluyen la presencia de eritrocitos nucleados, cuerpos de Heinz y esferocitos. Sin embargo, el exceso de zinc en humanos se asocia con una anemia crónica no hemolítica que no responde a una suplementación férrica (Breitschwerdt et al., 1986). El mecanismo subyacente que origina la anemia hemolítica en los canidos no está claro, pero se sospecha que los daños oxidativos juegan un papel importante; así, los cuerpos de Heinz no se observan de forma habitual en eritrocitos normales, apareciendo estas estructuras como consecuencia de daños oxidativos. Los cuerpos de Heinz presentes en la membrana eritrocitaria son una señal para el sistema fagocítico mononuclear, dando lugar a una eritrofagocitosis esplénica de las células dañadas (Latimer et al., 1989). En algunos casos se produce una fagocitosis parcial que origina esferocitos, que son glóbulos rojos con ausencia de la palidez central y con un menor tamaño que los eritrocitos (Breitschwerdt et al., 1986).

El daño oxidativo ocasionado por el zinc tiene lugar por diversas vías y así, por ejemplo, el zinc disminuye la absorción de cobre en el intestino, originando una reducción de los niveles séricos de cobre. La importancia de este hecho radica en que el cobre es un elemento esencial para la actividad de la ceruloplasmina (ferroxidasa), una enzima que regula la velocidad a la que se libera en hígado el hierro ligado a la transferrina y que actúa como un potente antioxidante sérico capaz de neutralizar radicales superóxido (Frieden, 1983). Además, niveles elevados de zinc han demostrado disminuir los niveles intracelulares de glutatión en astrocitos de ratas, el cual es un importante inhibidor de la oxidación celular (Ryu et al., 2002).

La interferencia de los niveles de zinc en los procesos de almacenamiento y empleo de hierro y cobre, origina una supresión de la hematopoyesis y así, dietas con un nivel elevado de zinc interfieren en la acumulación de cobre hepático e impiden la absorción intestinal del calcio (Gupta, 2007). En una intoxicación por zinc también pueden observarse cuadros de pancreatitis y artritis aguda (Gupta, 2007).

### 3.4.2. PLOMO

#### 3.4.2.a. Propiedades fisicoquímicas

Se puede definir este elemento como un metal sólido gris-azulado, pesado, dúctil y maleable que presenta las siguientes propiedades fisicoquímicas:

<b>Número atómico</b>	82
<b>Punto de fusión</b>	327,40°C
<b>Punto de ebullición</b>	1740,00°C
<b>Solubilidad</b>	Insoluble
<b>Presión de vapor</b>	1,77 mmHg (1000°C)
<b>Valencias</b>	+2 + 4
<b>Masa atómica</b>	207,19 g/mol
<b>Densidad</b>	11,34 g/ml (20°C)

**Tabla 7.** Propiedades fisicoquímicas del plomo (Kaplan y Pesce, 1991; Gil, 2005; ATSDR, 2008)

#### 3.4.2.b. Fuentes de plomo

En la naturaleza se encuentra normalmente en forma de sulfuro, mineral que recibe el nombre de galena. Es un metal resistente a la acción de algunos ácidos fuertes, como el ácido sulfúrico; sin embargo, suele ser fácilmente atacado por ácidos orgánicos e incluso por aguas ricas en nitratos, sales de amonio o de carácter ácido (Gil, 2005). Debemos hablar no sólo del plomo sino de sus derivados, pudiendo distinguir (Gil, 2005):

- ◆ **Inorgánicos:** son poco solubles y, por lo tanto, de escasa toxicidad. Entre ellos tenemos los óxidos (el más conocido el minio u óxido de plomo rojo, que es base de pinturas anticorrosivas), el cromato (se usa como colorante amarillo), el arseniato de plomo (presente en algunos plaguicidas), el carbonato (empleado como pigmento blanco) y el sulfuro o galena (utilizado por ceramistas y alfareros).

- ◆ **Orgánicos:** resultan más solubles y también más tóxicos. En este grupo se encuentran el acetato de plomo o sal de Saturno (muy soluble, se empleó como abortivo), el estearato (aditivo de plásticos), el naftaleno de plomo (empleado en aceites industriales) y el plomo tetraetilo (usado durante mucho tiempo como antidetonante en los carburantes).

El plomo inorgánico, que proviene de varias fuentes industriales y mineras, se encuentra en el agua en el estado de oxidación +2. Los gases emanados por combustión de la gasolina con plomo constituyeron una importante fuente de contaminación atmosférica y terrestre de este metal. Además de las fuentes contaminantes, la caliza portadora de plomo y la galena (PbS) aportan este metal a las aguas naturales (Manahan, 2007).

El plomo aparece ampliamente distribuido en el medio ambiente pero en baja concentración (Roder, 2002). Cuando se libera al aire, como consecuencia de una actividad industrial o minera, puede ser transportado a largas distancias antes de depositarse en el suelo (Kaplan y Pesce, 1991).

Las fuentes naturales de liberación de este metal hacia la atmósfera están asociadas principalmente con el vulcanismo y, en una menor proporción, con la erosión eólica. Sin embargo, estos aportes son, en general, del orden de 10 veces menos importantes que los efectuados por otras contaminaciones (Kolf-Clauw et al., 2007). Por tanto, la mayor parte del plomo que se encuentra en el medio ambiente procede de actividades humanas como (Kaplan y Pesce, 1991; Roder, 2002; Gil, 2005):

- Extracción, tratamiento, fundición, laminado y vaciado de plomo, así como de sus aleaciones y de metales plumbíferos (fundamentalmente la galena).
- Fabricación y reparación de acumuladores de plomo (baterías).
- Fabricación y manipulación de pinturas, lacas, barnices y materias plásticas.
- Extracción y producción de combustibles fósiles (como antidetonante).
- Trabajos en alfarería y vidrios al plomo.
- Fabricación de municiones, artículos pirotécnicos y de pesos de plomo para pesca.
- Recuperación de chatarra (reciclado de plomo).
- Preparación y empleo de insecticidas con arseniato u otras sales de plomo.
- Blindajes de recintos de radiología.
- Soldaduras.

Es importante destacar que el plomo se ha empleado durante siglos en las tuberías del agua, en barnices y en pinturas, presentando estas últimas un contenido en plomo de hasta el 40% de su peso seco (Curtis et al., 1998).

La intoxicación crónica por plomo, sobre todo en zonas urbanas, ha llevado a restricciones legislativas en el uso del plomo, especialmente en pinturas y gasolina (Curtis et al., 1998; Roder, 2002). Hasta 1999 la parte de contaminación aportada por el transporte rodado se consideraba la mayoritaria, pero la introducción de los carburantes sin plomo y la prohibición de la gasolina con plomo ha hecho que la contribución de esta fuente haya perdido toda preponderancia, siendo desde hace pocos años la industria de la manufacturación la que emite más plomo al medio ambiente (Kolf-Clauw et al., 2007). Por el contrario, el plomo asociado a la caza, a pesar de tratarse de un fenómeno localizado en la escala global de la biosfera, manifiesta un importante impacto ecotoxicológico (Kolf-Clauw et al., 2007). Sólo en Francia, se estima que cada año los cazadores liberan al medio alrededor de 60 toneladas de plomo. En algunos humedales de la Península Ibérica se han observado valores de 22,5 a 85,7 perdigones de plomo/m<sup>2</sup> en los 10 cm más superficiales del sedimento (Mateo et al., 2006).

Especial interés en alimentación presentan los forrajes contaminados con el plomo de operaciones de los hornos de fundición y aquellos que han crecido en suelos contaminados con plomo procedente de actividades industriales (Roder, 2002).

#### **3.4.2.c. Funciones y efectos tóxicos del plomo**

La intoxicación por plomo ya aparece referenciada en textos egipcios (4.000 a.C.), y la primera descripción de Hipócrates del cólico saturnino data del año 460 a.C.. Junto con el benceno ha sido una de las intoxicaciones profesionales más importantes y frecuentes en la historia. Estas patologías aparecen recogidas en el Real Decreto 1299/2006, de 10 de noviembre, *por el que se aprueba el cuadro de enfermedades profesionales en el sistema de la Seguridad Social y se establecen criterios para su notificación y registro*, cuyo grupo 1 del anexo I contempla las enfermedades profesionales causadas por agentes químicos, entre ellos, los metales pesados.

En medicina veterinaria, la intoxicación por plomo se describe con más frecuencia en perros, bovinos, caballos y aves acuáticas (Merck, 2000) y, en menor medida, en gatos, cabras, ovejas y pollos, debido a los hábitos alimenticios más selectivos, a una menor accesibilidad o una menor susceptibilidad (Merck, 2000; Roder, 2002). Por otra parte, destaca la elevada tolerancia que muestran los cerdos a la ingesta de este metal (Blood, 2002; Roder, 2002). La vía de ingreso más habitual es la digestiva, si bien la vía inhalatoria se ha descrito en algunos casos (Blood, 2002).

La toxicidad del plomo depende de la forma química en que se encuentre, siendo más tóxicas las sales que el propio plomo metálico. Esta toxicidad, según Jurado (1989) decrece en el siguiente orden: nitrato, acetato, cloruro, sulfato, sulfuro y fosfato. También se debe considerar que cualquier situación de estrés exacerba los efectos de la intoxicación (Pain y Rattner, 1988).

El plomo actúa prácticamente sobre todos los tejidos y órganos mediante su unión al grupo sulfhidrilo de los sistemas enzimáticos, siendo especialmente sensible el sistema nervioso central, en

especial en animales en desarrollo (Kuschinsky y Lüllmann, 1973; Mateo et al., 2006; Piedrola, 2008). A nivel encefálico, los niveles elevados de plomo originan un desequilibrio en la liberación de neurotransmisores, dando lugar a alteraciones del comportamiento, desmielinización periférica y degeneración axonal (Klaassen y Watkins, 2001). Otros órganos que se ven seriamente afectados son los riñones y el aparato reproductor (Kuschinsky y Lüllmann, 1973; Piedrola, 2008). Puede alterar la producción de hemoglobina y citocromos (Hermoso de Mendoza et al., 2008). También puede reemplazar al zinc como cofactor enzimático en algunas vías metabólicas (Roder, 2002). En rumiantes, las partículas de plomo alojadas en el retículo se disuelven lentamente y liberan cantidades significativas de plomo (Merck, 2000).

Además de la hemorragia cerebelar y el edema asociado con las lesiones capilares, el plomo es irritante, inmunodepresor, gametotóxico, teratogénico, nefrotóxico y dañino para el sistema hematopoyético (Merck, 2000), a todo ello se debe añadir el demostrado efecto carcinógeno en animales (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

### 3.4.3. CADMIO

El cadmio fue descubierto por Friedrich Stromeyer en 1817, debiéndose su nombre al vocablo latino *cadmia*, procediendo este del término griego *kadmeia*, que significa calamina, un mineral de zinc (carbonato de zinc anhidro), al que se parece mucho el cadmio. La calamina debe su nombre a que se extraía en Kadmea, la ciudadela de Tebas, la cual, según la mitología griega, fue fundada por Cadmio, hijo de Agenor, rey de Fenicia. Plinio, por su parte, otorgó el nombre de *cadmia* a un polvo de tonalidad parduzca que se acumulaba en las chimeneas de los hornos de fusión que se empleaban en la fabricación de latón. A partir de este polvo pardo (carbonato de zinc), aisló Stromeyer el cadmio (Hernández, 2006).

#### 3.4.3.a. Propiedades fisicoquímicas

Se trata de un metal de color blanco-metálico con matiz azulado, brillante y dúctil (Gil, 2005).



Número atómico	48
Punto de fusión	321,00°C
Punto de ebullición	765,00°C
Solubilidad	Insoluble
Presión de vapor	1 mmHg (394°C)
Valencias	2
Masa atómica	112,41 g/mol
Densidad	8,65 g/ml (25°C)

**Tabla 8.** Propiedades fisicoquímicas del cadmio (Gupta, 2007; ATSDR, 2008).

#### 3.4.3.b. Fuentes de cadmio

El cadmio es un metal de transición divalente que no se encuentra en estado libre en la naturaleza, pero sí en forma mineral combinado con otros elementos formando óxido, cloruro o sulfato de cadmio (Gupta, 2007). Las fuentes naturales de cadmio son las erupciones volcánicas, la erosión y lavado de rocas graníticas y los incendios forestales.

En la industria se obtiene como residuo a partir de la fundición y refinamiento de los minerales de zinc, plomo y cobre (por lo general contienen entre un 0,2 y un 0,4% de este metal), así como por el empleo de fertilizantes fosfatados (Sarabia, 2002; Gupta, 2007; Guzmán, 2007; Hermoso de Mendoza et al., 2008).

El cadmio es un metal fácilmente atacable por ácidos pero de difícil oxidación, propiedad por la que fue utilizado para proteger a otros metales como el hierro y el acero contra la corrosión. Actualmente se emplea en infinidad de productos y procesos industriales, entre ellos (Méndez, 2001; Blood, 2002; Gupta, 2007):

- Baterías de níquel-cadmio.
- Preparación del cadmio por procesado del zinc, cobre o plomo.
- Aleaciones de cadmio con acero y cobre, aumentando así su resistencia.
- Producción de acero y hierro.
- Fabricación de lámparas fluorescentes.
- Galvanoplastia electrolítica (metalizado) por su resistencia a la corrosión.
- Fabricación de pigmentos (pinturas, tintes, textil, papel, plásticos, cerámica o pirotecnia) a



partir de sulfuros (amarillos y naranjas) o sulfoseleniuros (rojos).

- Contaminante de abonos fosfatídicos.
- Antihelmínticos.
- En reactores nucleares por su capacidad de absorber neutrones.
- Aditivo de plásticos (estearato de cadmio).
- Aleaciones para soldadura, en la que el cadmio sustituye al estaño, formando electrodos de manganeso-cadmio.

Desde un punto de vista industrial destaca el empleo del cadmio en distintas formas: óxidos, sulfuros, cloruros, bromuros, sulfatos o carbonatos, según las aplicaciones a las que se destine el metal (Gil, 2005).

El cadmio se dispersa en el medio ambiente procedente de fuentes como la minería, la industria, por la combustión del carbón, incendios forestales, incineración de basuras domésticas y erupciones volcánicas, pudiendo viajar largas distancias a través del aire antes de depositarse en el suelo o el agua (ATSDR, 1999). El contenido de cadmio en el suelo es relativamente bajo y su absorción vegetal pobre, no siendo preocupante su entrada directa en la cadena alimentaria humana (NRC, 2001). No obstante, el empleo de fertilizantes con productos fosforados ricos en cadmio y la presencia de residuos urbanos en los suelos favorece su absorción vegetal y su posterior incorporación a la cadena alimentaria de los herbívoros (NRC, 2001; Gupta, 2007).

En la aplicación de abonos de tipo superfosfato radica el origen de la contaminación del suelo, pues los abonos, sean tanto naturales como químicos, contienen impurezas, siendo el cadmio una de las principales (Kolf-Clauw et al., 2007).

Entre las posibles fuentes de intoxicación no profesional cabe destacar la debida a la ingestión de moluscos bivalvos con niveles elevados de cadmio. Hoy día son menos frecuentes los casos acaecidos como consecuencia del consumo de alimentos conservados en latas galvanizadas que contenían cadmio, ya que este metal se disuelve en ácidos orgánicos incorporándose así a los alimentos. En la actualidad estos envases y utensilios están sometidos a una legislación específica restrictiva (Gil, 2005).

#### **3.4.3.c. Funciones y efectos tóxicos del cadmio**

Las intoxicaciones industriales por cadmio resultan de la exposición excesiva a polvos y humos que se desprenden en la producción del metal y de sus sales (Gil, 2005), reconociéndose como enfermedad profesional en el Real Decreto 1299/2006.

No hay evidencias de que el cadmio sea un elemento esencial para los seres vivos. Por el contrario, se ha demostrado que incluso a concentraciones muy bajas, es tóxico para todas las formas de vida (Hermoso de Mendoza et al, 2008). No obstante, algunos estudios realizados con roedores, gallinas y ganado vacuno han demostrado mayores incrementos en su peso cuando se añaden cantidades bajas de cadmio en sus dietas, desconociéndose el origen de este efecto (NRC, 2005).

Los bioindicadores parecen ser muy sensibles al cadmio, siendo de gran interés para evaluar su impacto en el ecosistema (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

El efecto tóxico del cadmio se debe a los iones libres, mientras que el metal unido a la metalotioneína es menos activo (NRC, 2005). La acción tóxica se debe a su acción inhibitoria sobre los grupos sulfhidrilo, perturbando el metabolismo de los aminoácidos azufrados y la acción de numerosas enzimas (anhidrasa carbónica, deshidrogenasa, carboxipeptidas, etc.), provocando disfunciones en el crecimiento y metabolismo (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

Otro aspecto importante es que este metal compite con el zinc y otros metales, a los que reemplaza como cofactor en ciertas reacciones enzimáticas. El interés de este hecho radica en el eventual papel preventivo del zinc en las intoxicaciones crónicas por cadmio (NRC, 2005).

---

# MATERIAL Y MÉTODOS

---





## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. TOMA DE MUESTRAS

La determinación de metales pesados en este estudio se realiza en muestras procedentes de ejemplares de zorro común (*Vulpes vulpes*), de distintas edades y sexos, recogidas en localizaciones representativas de las cuatro provincias gallegas durante un periodo de 8 años (2003-2011). Este trabajo se ha realizado finalmente con 257 ejemplares seleccionados tras un estricto control, desechando todos aquellos animales que presentaban restos de munición (perdigones) o lesiones de origen traumático en la cavidad abdominal, por lo que el número de zorros examinados ha sido considerablemente mayor.

La totalidad de los animales incluidos en este estudio proceden de batidas de caza autorizadas por la autoridad competente en la Comunidad Gallega, en fecha y localización, para el control poblacional del zorro, contando además con la colaboración del personal de la Federación Galega de Caza (FGC).

La toma de datos básicos (edad, sexo, localización, etc.) y de biometría se lleva a cabo en el lugar de reunión posterior a la cacería, donde se realiza el control oficial de los animales abatidos, siendo cada animal identificado con un crotal auricular para garantizar la trazabilidad.

Posteriormente todos los cadáveres se trasladan a la sala de necropsias de la Facultad de Veterinaria de Lugo, donde se realiza la toma de muestras. Habitualmente, los restos se eliminan de forma higiénica mediante incineración, salvo que se destinen a otras actividades docentes o de investigación. En cualquier caso, la toma de muestras para este estudio se realiza el mismo día en que los animales son abatidos.

En el lugar de recepción de las capturas y control oficial de la batida, con la colaboración de la Federación Galega de Caza, los cazadores y jueces de la prueba, se toman los siguientes datos acerca de cada zorro:

- Localización exacta (ayuntamiento y lugar) de la zona de captura de cada ejemplar. Se realiza con la ayuda de mapas topográficos facilitados por la FGC en los que se incluyen los núcleos de población.
- Determinación de la edad de los ejemplares atendiendo a diversos factores: desarrollo corporal, aspecto externo del animal, desarrollo de los genitales y estado de las piezas dentales. Dado que éste no deja de ser un método subjetivo que depende de la pericia del observador, sólo se establecen tres grupos de edad para que resulte más sencillo ubicar a cada animal en su grupo. Aquellos ejemplares que no se puedan incluir con exactitud en alguno de los grupos de edad son excluidos del estudio. Los grupos de edad establecidos son:

- Jóvenes: individuos con aspecto de adulto pero con la dentadura claramente sin desgaste, dientes muy afilados (especialmente los incisivos) que muestran todas sus cúspides bien formadas, con la forma característica en flor de lis.
  - Adultos: individuos con la dentadura completa, aunque pueda faltar alguna pieza, pero se evidencian signos claros de desgaste especialmente en los incisivos (que pierden alguna o todas sus cúspides) pero también en el resto de la dentadura.
  - Gerontes: el grado de desgaste en todos los tipos de dientes (incluso apreciable en los molares) es mucho mayor que en los adultos; con frecuencia presentan distintos grados de enfermedad periodontal, e incluso, pérdida de piezas dentales.
- Determinación del sexo.
  - Otras observaciones de interés para completar este trabajo y futuras investigaciones: índice de condición corporal, presencia de parasitosis, lesiones, temperatura del cadáver (que permite establecer la hora aproximada de la muerte) y medidas biométricas (longitudes y peso).

Una vez debidamente identificados los ejemplares se trasladan a la sala de necropsias de la Facultad de Veterinaria de Lugo, donde se procede a la apertura de la cavidad abdominal para la toma de muestras. Se desechan todos aquellos cadáveres que presentan cualquier signo de impacto de perdigones en el abdomen.

De cada zorro se toma una muestra de aproximadamente 50 gramos de hígado, riñón y pelo que se introducen directamente (sin contactar con ninguna superficie) en bolsas de plástico con autocierre, se rotulan y se congelan a -20 °C, donde permanecen almacenadas hasta su procesamiento laboral.

Las muestras de los distintos órganos y tejidos, individualizadas por ejemplar y adecuadamente identificadas en bolsas de plástico con autocierre, fueron remitidas al Laboratorio de Toxicología de la Universidad de Extremadura (Facultad de Veterinaria), manteniéndose tanto en el proceso de transporte como en el de almacenamiento a temperatura de congelación. Una vez recibidas en Cáceres, las muestras se conservaron en todo momento (salvo para las necesarias manipulaciones) a una temperatura de -80 °C

En cualquier caso, las superficies y equipos que se emplean están elaborados en materiales que no pueden dar lugar a transferencia de metales pesados en las muestras, evitando así una posible contaminación de éstas que invalidaría los resultados del estudio. El material necesario para la necropsia y toma de muestras se lava y limpia adecuadamente tras el procesado de cada individuo.



**Imagen 4.** Recepción de los zorros en la zona de batida: toma de datos, inspección veterinaria, selección previa, identificación individual y determinación de la edad según desgaste de las piezas dentales





**Imagen 5.** Procesado en la sala de necropsia. Selección de zorros sin lesiones externas de perdigonada en abdomen. Material necesario para la toma de muestras. Revisión previa al muestreo de la piel y vísceras para comprobar la ausencia de lesiones o munición en el abdomen.

## 4.2. PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Con objeto de minimizar la contaminación de las muestras con metales, se emplea en la medida de lo posible durante la toma de muestras y en el procesado de las mismas material de plástico y vidrio borosilicatado.

El material de vidrio se lava y se mantiene en una solución de ácido nítrico al 10% durante al menos 24 horas, periodo tras el cual se realiza un doble enjuagado en agua destilada Milli-Q y se procede al desecado del material, mientras que el material plástico es de un solo uso o se lava con agua bidestilada.

En un primer momento se procede a descongelar las muestras conservadas en el laboratorio, tomando con material plástico una alícuota de aproximadamente unos 4 g de la zona central que no



había tenido contacto con el cuchillo metálico empleado en la sala de necropsias, con el cual se practicó la toma de muestras. Esta alícuota se introduce en crisoles de porcelana de un volumen aproximado de 60 ml y seguidamente es desecada en una estufa a 105 °C hasta la obtención de una muestra con peso constante, lo que tiene lugar a las 24 horas (Doganoc y Sinigoj, 1995).

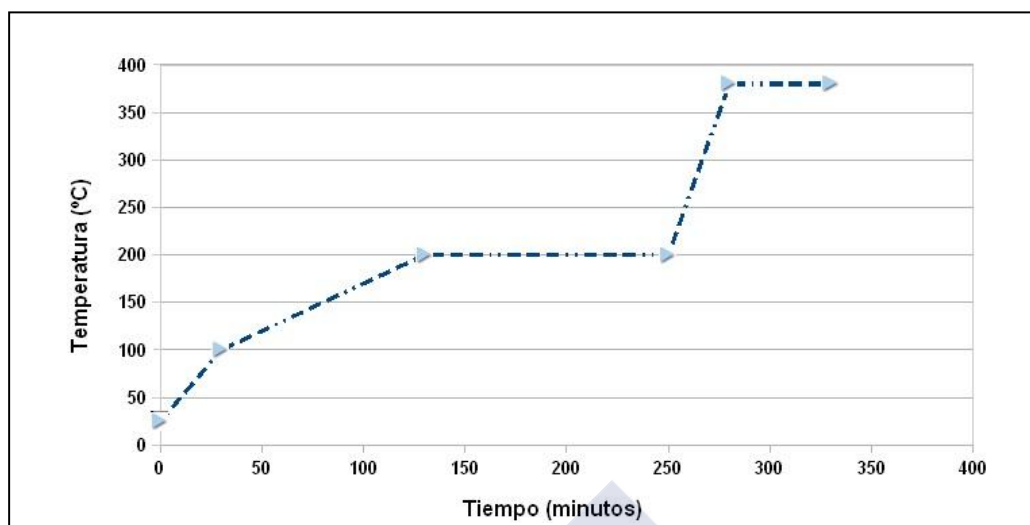
En el caso concreto de las muestras de pelo, con objeto de eliminar la contaminación externa de su superficie, se realiza el lavado de las mismas previamente a su digestión. En dicho procedimiento se realizan tres enjuagues consecutivos con un disolvente orgánico (acetona), empleando en cada uno 10 ml de disolvente. A continuación se procede al agitado de las muestras durante 20 minutos y a la eliminación del disolvente mediante el empleo de una pipeta. El proceso finaliza con el lavado de las muestras con agua destilada en las condiciones descritas anteriormente. Una vez las muestras pilosas están lavadas y secas siguen el mismo procedimiento descrito anteriormente para las muestras desecadas.

Durante todo el procesado se controla el peso inicial de la muestra (peso húmedo) y el final (peso seco) de la alícuota, a nivel de 0,1 mg lo cual será indispensable para la determinación final de las concentraciones de metales.

El procedimiento seguido para analizar los metales pesados (Pb, Cd y Zn) en muestras biológicas de tejidos internos requiere la mineralización de las muestras, asegurando la destrucción de la materia orgánica. Esta mineralización se puede conseguir por vía seca (incineración en horno de mufla a 450 °C) o por vía húmeda (digestión con ácidos), optando en nuestro caso por la vía húmeda, para lo cual se introduce 0,5 g de muestra desecada en un tubo de vidrio borosilicatado, añadiendo en el mismo 6 ml de una mezcla de ácido nítrico, perclórico y sulfúrico, calidad “para análisis de trazas”, en una proporción 8:8:1 (García-Fernández, 1994; Santiago et al, 1998). Los tubos que contienen la mezcla de ácidos y las muestras problema, identificados de forma inequívoca, se introducen en un bloque digestor Technicon BD-40 con controlador de temperatura Technicon BD-20/40 y se mantienen durante una noche a 50 °C.

A la mañana siguiente se someten las muestras a un programa de temperaturas entre 50 y 380 °C, tal y como se indica en la gráfica 1. Todo el proceso de digestión se hace en el interior de una vitrina con extracción de gases.

Una vez mineralizada la muestra, evaporada la mezcla de ácidos empleados en la digestión y enfriado el tubo, se procede a disolver las cenizas resultantes con 400 µl de ácido clorhídrico de calidad “para análisis de trazas”, alcanzando un volumen final de 40 ml mediante la adición de agua Milli-Q y lavados sucesivos de los tubos de vidrio, filtrando y transfiriendo la solución a matraces aforados de volumen adecuado. La solución resultante se conserva en tubos de polietileno graduados y con tapón de rosca, hasta su posterior análisis.



Gráfica 1. Programa de temperaturas empleadas en el proceso de digestión.

#### 4.3. ANÁLISIS DE CADMIO, PLOMO Y ZINC MEDIANTE VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA

Las técnicas voltamperométricas se encuentran entre las más empleadas a nivel experimental para la detección y cuantificación de metales pesados en muestras ambientales y biológicas (Sogorb y Vilanova, 2004). En nuestro caso se opta por el empleo de la voltamperometría de redisolución anódica con electrodo de mercurio por su elevada sensibilidad a la hora de determinar la presencia de metales pesados en baja concentración en comparación con técnicas de espectrofotometría de absorción atómica.

Además de para fines cuantitativos, esta técnica también se puede emplear con fines cualitativos, aprovechando las diferencias entre los potenciales de reducción u oxidación de los distintos metales presentes en la muestra, lo que permite obtener una visión analítica simultánea del contenido de iones metálicos presentes en la muestra.

La voltamperometría de redisolución anódica consta de tres etapas básicas:

- ◆ Preconcentración: los iones de interés presentes en la solución se reducen y el metal formado se deposita en la superficie de una microgota suspendida de mercurio.
- ◆ Redisolución: los elementos metálicos depositados en la superficie de la gota, se oxidan pasando nuevamente a la disolución y, en la ventana de potencial del barrido anódico, aparecen señales voltamétricas que son características para cada metal y corresponden al potencial de media onda de cada uno de ellos.
- ◆ En la tercera etapa se registran las curvas de corriente potencial, tanto para los estándares

como para la muestra problema. De acuerdo al potencial en que aparece cada señal voltamperométrica, se puede inferir la presencia o ausencia de cada metal en la muestra; permitiendo detectar la presencia de metales a niveles de  $\mu\text{g/l}$ .

#### 4.3.1. CONDICIONES DEL ANÁLISIS

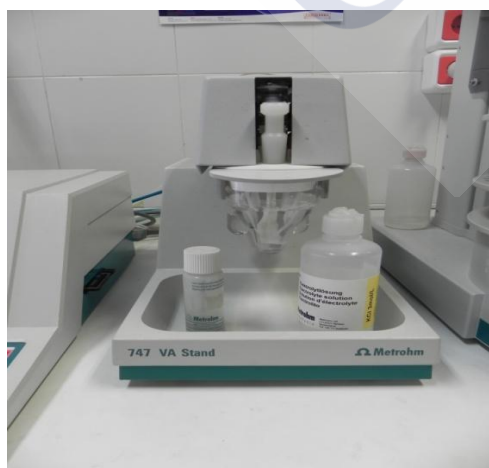
En el presente estudio se emplea un equipo de voltamperometría de redisolución anódica de impulso diferencial con electrodo de gota de mercurio (HMDE). Se trata concretamente de un equipo Metrohm formado por un procesador 746-VA Trace Analyser, un puesto de trabajo 747-VA Stand y un automuestreador 813 Compact Autosampler.



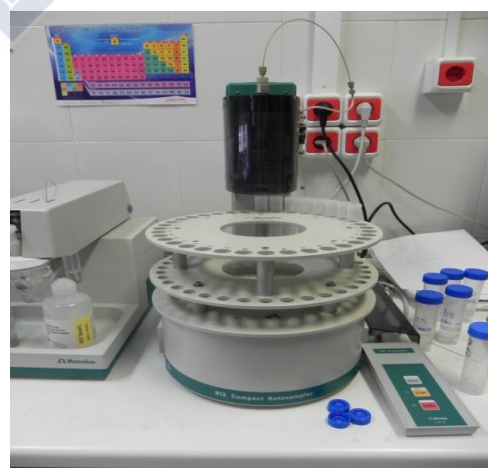
(a)



(b)



(c)



(d)

**Imagen 6.** (a) Bloque digestor Technicon BD-40 con controlador de temperatura Technicon BD-20/40, (b) Procesador 746-VA Trace Analyser, (c) Puesto de trabajo 747-VA Stand, (d) Automuestreador 813 Compact Autosampler.

El puesto de trabajo consta de una cubeta de vidrio donde se deposita la muestra y tres electrodos:

- Electrodo de trabajo o electrodo multimodo de mercurio (MME).
- Electrodo de referencia, formado por un sistema de referencia Ag/AgCl y tampón KCl 3 M.
- Electrodo auxiliar de platino.

Se añade la disolución (50 ml) a la cubeta de medida del voltamperímetro y se miden los 3 metales pesados en un solo segmento y por duplicado, midiendo dos blancos diarios. Por su parte, las condiciones operativas de trabajo en este dispositivo para la determinación de cadmio, plomo y zinc en la disolución final se concretan en la tabla 9. La cuantificación de los niveles de metales pesados en la solución final se realizó mediante la técnica de adición de patrón estándar con las condiciones que aparecen reflejadas en la tabla 10.

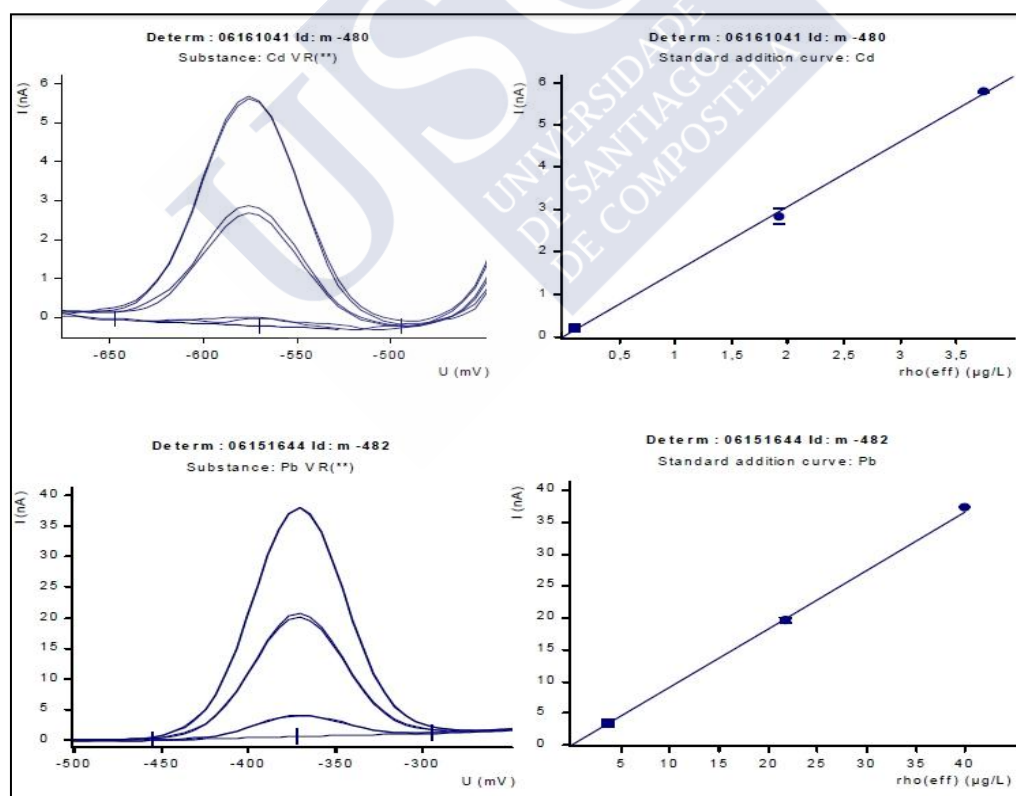
Purga de nitrógeno	300 seg a 2.000 rpm
Técnica	HMDE (tamaño de gota 4)
Modo de medición	Diferencial de impulsos (DPMODE)
Tiempo de electrolisis	30 seg
Amplitud de impulsos	6 mV
Tiempo de repetición de impulsos	40 mseg
Tiempo de reposo tras electrolisis	15 seg
Inicio de medición	-1,250 mV
Fin de medición	- 200 mV
Velocidad de barrido	20 mV/seg
Electrolito de soporte	Ninguno
Potencial de verificación (Cd)	- 585 mV $\pm$ 30 mV
Potencial de verificación (Pb)	- 375 mV $\pm$ 50 mV
Potencial de verificación (Zn)	- 960 mV $\pm$ 50 mV

**Tabla 9.** Características del segmento de medida del Zn-Cd-Pb en el voltamperímetro Metrohm ®.

Volumen de muestra	10 ml
Adición de solución de patrones	2 por análisis
Volumen de solución de patrones / adición	100 $\mu$ l
Concentración de Cd en solución patrón: • Para hígado: • Para riñón:	0,2 mg/l 2 mg/l
Concentración de Pb en solución patrón: • Para hígado: • Para riñón:	2 mg/l 1 mg/l
Concentración de Zn en solución patrón: • Para hígado: • Para riñón:	25 mg/l 10 mg/l

**Tabla 10.** Condiciones de realización de la técnica de adición de patrón estándar

Siguiendo esta técnica se elabora una curva de calibrado para cada muestra, de utilidad para cuantificar la concentración final de metales pesados. En la siguiente gráfica se pueden observar las curvas obtenidas en el análisis de las muestras procesadas, así como las curvas de calibrado.



**Gráfica 2.** Curvas obtenidas en los análisis voltamperométricos en dos muestras de hígado elegidas al azar. Izquierda: curvas para cadmio y plomo tras el barrido. A la derecha, sus correspondientes curvas de adición estándar para la cuantificación.

### 4.3.2. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS

#### 4.3.2.a. Exactitud

La exactitud indica la capacidad del método analítico para obtener resultados lo más próximos posibles al valor real. En este caso se compara el valor medio obtenido por el método propuesto para la determinación del metal con el valor medio obtenido por un método ya validado. Así, la validación de la técnica de determinación de metales en muestras renales y hepáticas de zorros se lleva a cabo mediante el empleo de una muestra certificada de músculo bovino liofilizado del BCR (referencia nº 184) que presenta las siguientes concentraciones certificadas:

Pb	239 ng/g	Cd	13 ng/g	Zn	166 µg/g
----	----------	----	---------	----	----------

**Tabla 11.** Concentraciones de Cd, Pb y Zn en muestra certificada de músculo bovino liofilizado del BCR (referencia nº 184)

De la muestra certificada se hicieron un total de 8 replicados utilizando 0,15 g de músculo liofilizado y 4 replicados de blanco que se sometieron al procesado y cuantificación detallados anteriormente. Los resultados de la exactitud del método fueron los mostrados en la tabla 12. De todos estos resultados se deduce la viabilidad del método empleado para la determinación de metales pesados en tejidos biológicos.

	Cd	Pb	Zn
Recuperación (%)	98,92	91,35	113,40
Coef. Variación en la muestra certificada (%)	5,60	8,30	7,80
Coef. Variación en los blancos (%)	4,40	4,50	9,70

**Tabla 12.** Porcentaje de recuperación de metales pesados en muestra certificada.

#### 4.3.2.b. Linealidad y sensibilidad

Para poder realizar una cuantificación de forma fiable, es preciso que se dé una relación lineal entre la concentración de los metales pesados en las muestras en estudio y las existentes en una disolución patrón. Si elaboramos una disolución patrón y la sometemos a diluciones seriadas y conocidas, conseguiremos conocer la respuesta lineal del equipo y podremos conocer la dilución más baja capaz de ser determinada por el voltamperímetro.

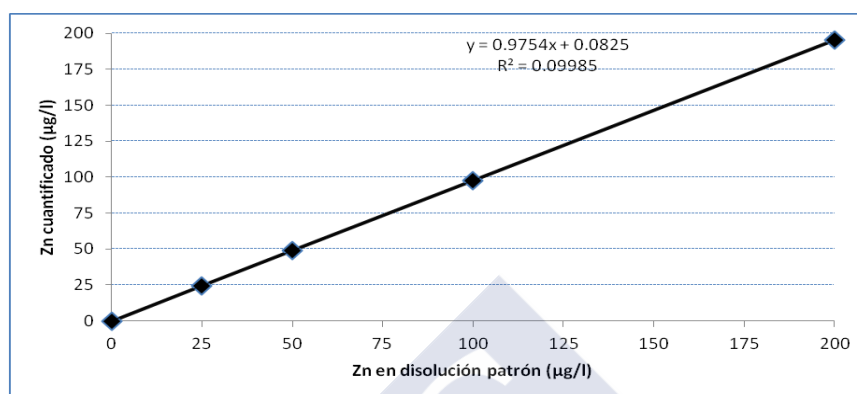
Para el estudio de linealidad se emplean diversas disoluciones patrón de concentraciones decrecientes en agua Milli-Q que se someten al procesado de digestión descrito con anterioridad. Así, se analizaron las siguientes disoluciones patrón para los distintos metales incluidos en este estudio:

Para el cadmio: 0.5, 1, 3 y 5 µg/l.

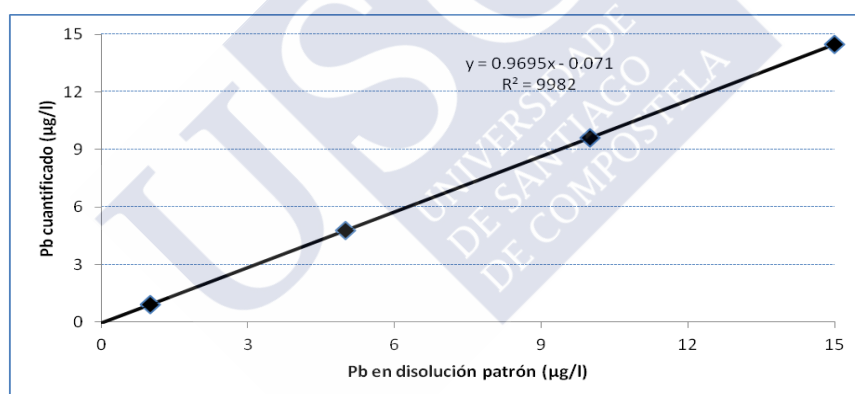
Para el plomo: 1, 5, 10 y 15 µg/l.

Para el zinc: 25, 50, 100 y 200 µg/l.

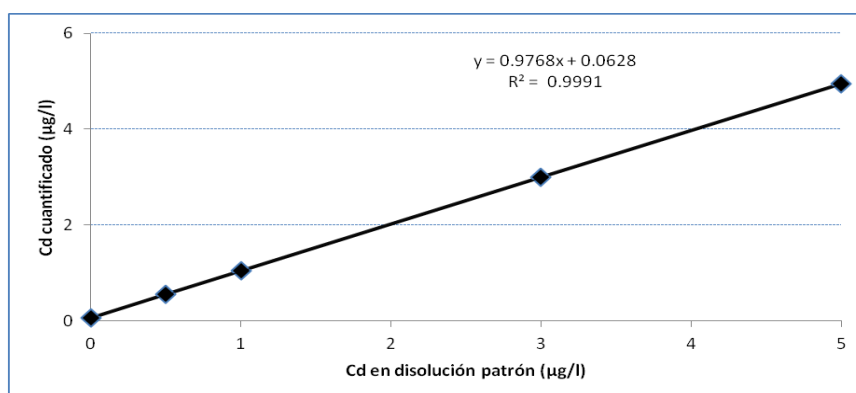
En todos los casos, tal como se puede apreciar en las siguientes gráficas, se obtiene una buena linealidad entre las concentraciones estudiadas, obteniendo en todos los casos unos coeficientes de correlación ( $R^2$ ) superiores a 0,99.



**Gráfica 3.** Linealidad de respuesta frente a distintas concentraciones de zinc.



**Gráfica 4.** Linealidad de respuesta frente a distintas concentraciones de plomo.



**Gráfica 5.** Linealidad de respuesta frente a distintas concentraciones de cadmio.



El límite de detección se calcula a partir de estas linealidades aplicando el criterio de que la altura del pico fuera como mínimo el triple del valor encontrado para una muestra blanco, diferenciándose claramente de la línea base y dando una altura que permitiera una cuantificación con garantías. En el caso de los tres metales pesados incluidos en el estudio la más baja concentración ensayada en la linealidad cumplían de sobra estos criterios por lo que fueron establecidas como límite de detección (ver tabla 13 adjunta).

A todas aquellas muestras con unas concentraciones inferiores a los límites de detección señalados se les asignó un valor a efectos estadísticos de la mitad del correspondiente límite de detección.

	Cadmio	Plomo	Zinc
Límite de detección instrumental	0,25 µg/l	1,25 µg/l	1,25 µg/l
Límite de detección extrapolado a las muestras analizadas	0,005 mg/kg	0,025 mg/kg	0,025 mg/kg

**Tabla 13.** Límites de detección de la metodología analítica empleada en el presente estudio.

#### 4.3.2.c. Control de calidad

Además de las pruebas de validación descritas en los puntos anteriores, a cada lote de muestras se le realiza un control de calidad del análisis que se puede resumir en los siguientes dos puntos:

- Estudio de blancos: con este estudio se pretende asegurar la ausencia de contaminación de los reactivos empleados en el procesado y análisis de las muestras.
- Muestras duplicadas: con lo que se pretende asegurar la reproductibilidad del método. Así, en cada lote de muestras, una de ellas es procesada por cuadruplicado y en una de las mismas se añade una cantidad conocida (400 µl) del patrón de adición. La recuperación y variabilidad obtenida en estas muestras duplicadas garantiza la adecuación del método.

## 4.4. REACTIVOS, MATERIAL E INSTRUMENTAL UTILIZADO

### 4.4.1. REACTIVOS

- Ácido nítrico 69 % para análisis de trazas (Scharlau).
- Ácido sulfúrico 94% para análisis de trazas (Scharlau).
- Ácido clorhídrico 37% para análisis de trazas (Scharlau).



- Ácido perclórico 70% para análisis (Scharlau).
- Agua ultrapura Milli-Q.
- Solución patrón de cadmio (1.000 mg/l) en ácido nítrico al 2% (Scharlau).
- Solución patrón de plomo (1.000 mg/l) en ácido nítrico al 2% (Scharlau).
- Solución patrón de zinc (1.000 mg/l) en ácido nítrico al 2% (Scharlau).
- Mercurio metálico tridestilado (Panreac).
- Acetona de grado analítico ACS (Scharlau).

#### **4.4.2. MATERIAL**

- Cuchillo, tijeras y pinzas de plástico (disección de las muestras).
- Recipientes de polipropileno de 60 ml de volumen (secado de las muestras).
- Tubos de vidrio borosilicatado de fondo redondo de 120 x 25 mm y 1,5 mm de espesor de pared (digestión de las muestras).
- Tubos de polietileno de fondo cónico con faldón graduados de 40 ml (recogida y almacenamiento de la muestra resuspendida).
- Tubos de polietileno de fondo cónico graduados de 15 ml (colocación de la muestra en el automuestreador).
- Material de plástico y vidrio de uso habitual en el laboratorio.

#### **4.4.3. INSTRUMENTAL**

- Agitador de tubos Rex 2000 (Heidolph).
- Estufa de desecación modelo 2000200 (Selecta).
- Balanza de precisión 110 g x 0,1 mg modelo 1801 (Sartorius).
- Aparato de producción de agua ultrapura Milli-Q plus (Millipore).
- Congelador -80 °C Ultralow Freezer (Nuaire).
- Bloque digestor Technicon BD-40 con controlador de temperatura Technicon BD-20/40.
- Equipo de voltamperometría (Metrohm) compuesto por:
  - Procesador 746-VA Trace Analyser.

- Puesto de trabajo 747-VA Stand.
- Automuestreador 813 Compact Autosampler.
- Programa informático VA Database 2.1.

## 4.5. ANALISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

El tratamiento estadístico de los resultados se realiza mediante el programa estadístico SPSS 18.0 para Windows con licencia para la Universidad de Santiago de Compostela.

En primer lugar, después de una descripción de la población muestral y de las frecuencias observadas en cada grupo y subgrupo, se realiza el análisis de los principales estadísticos descriptivos (media, desviación típica, etc.) de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc en los riñones, hígado y pelo de todos los ejemplares incluidos en el estudio.

En segundo lugar, se realizó el estudio de las correlaciones a través del coeficiente de correlación de Pearson. Se estudiaron las correlaciones existentes entre los diferentes metales y tejidos entre sí, teniendo en cuenta las variables de clasificación sexo, edad y hábitat.

Posteriormente se realiza el análisis de varianza, iniciando el estudio con el test de Levene para cada variable con el fin de comprobar la existencia de homocedasticidad (varianzas iguales) o heterocedasticidad. En los casos de las variables que el resultado del Test de Levene posee un valor  $p \geq 0,1$  y que por tanto podemos asumir varianzas iguales en los diferentes grupos, aplicamos ANOVA con las pruebas post hoc HSD de Tukey y DMS. En los casos de las variables con heterocedasticidad, en las que no se puede asumir que las varianzas sean iguales, realizaremos transformaciones Box-Cox para lograr varianzas iguales y analizar mediante ANOVA. Después de esto, en las variables que no muestren varianzas iguales, teniendo en cuenta que el tamaño de muestras en todos los grupos es grande (más de 30 en todos los casos) realizaremos una comparación por pares mediante el test “t”, como aproximación al test utilizado en distribución normal para muestras grandes.

A cada muestra por debajo del límite de detección de la instrumentación se le asignó un valor correspondiente a la mitad del límite de detección del elemento en cuestión para el estudio estadístico, para de esta manera minimizar el error nominal de tipo I (Clarke, 1998).

Así mismo se aplicó un test de Spearman para determinar las correlaciones en el contenido de los distintos metales estudiados en las diferentes muestras biológicas. Para todos los ensayos, los valores de  $p$  considerados para determinar las diferencias significativas fueron  $p < 0.001$ ,  $< 0.01$  y  $< 0.05$ .

---

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---





## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo del presente apartado se relacionan los resultados obtenidos en las diferentes observaciones y análisis realizados en las muestras procedentes de los 257 ejemplares que conformaron el grupo de estudio, tratados estadísticamente y ordenados en tablas de resultados y gráficas.

### 5.1. RESULTADOS CORRESPONDIENTES A OBSERVACIONES GENERALES SOBRE EL GRUPO DE ESTUDIO.

El grupo de ejemplares considerados en la presente tesis doctoral estuvo formado por 257 individuos, 145 machos (56,4%) y 112 hembras (43,6%) (Tabla 14). El número de machos es ligeramente más elevado que el de hembras, aunque la diferencia del número de ejemplares depende exclusivamente de la oportunidad de recoger las piezas capturadas sin que, en nuestra opinión, existan factores que condicionen este extremo, excepto tal vez, la mayor movilidad de los machos en las últimas jornadas de caza como consecuencia del inicio del celo, extremo que ha sido observado con anterioridad por nuestro grupo de investigación (Fidalgo, 2010).

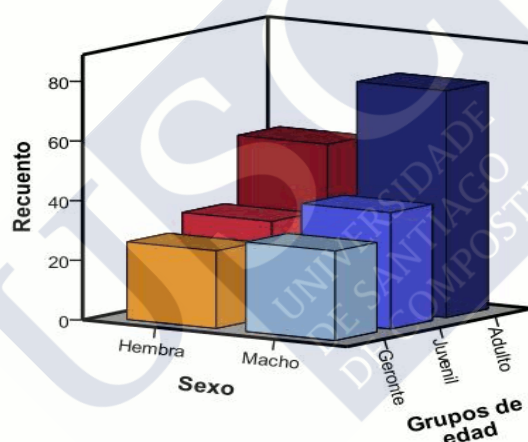
Subgrupos por sexo	Frecuencia	Porcentaje
Hembra	112	43,60
Macho	145	56,40
<b>Total</b>	<b>257</b>	<b>100</b>

**Tabla 14:** Clasificación en grupos en función del sexo de los zorros estudiados.

El número mayor de machos que de hembras, coincidentes con las observaciones de otros estudios realizados por nuestro grupo de investigación con anterioridad, parece indicar que en edad temprana mueren más hembras que machos y, en ausencia de otros datos bibliográficos al respecto, opinamos que pueda deberse a la mayor actividad desarrollada a edad temprana por las hembras, de la misma forma que ocurre en otros carnívoros, lo que las hace más vulnerables (González, 2004; Fajardo, 2008). En cualquier caso, la relación macho/hembra en la muestra (1,295 machos por cada hembra) es coherente con la encontrada en la mayoría de estudios, próxima a la unidad, pudiendo oscilar algo en función de la época del año en que se realice el muestreo (Vos, 1995; Chalon et al., 1998; Fidalgo et al., 2009).

SUBGRUPOS POR EDAD	Frecuencia	Porcentaje
Juvenil	71	27,6
Adulto	130	50,6
Geronte	56	21,8
<b>Total</b>	<b>257</b>	<b>100</b>

**Tabla 15.** Clasificación en grupos en función de la edad de los zorros estudiados.



**Gráfica 6.** Grupos de ejemplares estudiados clasificados por sexo y edad.

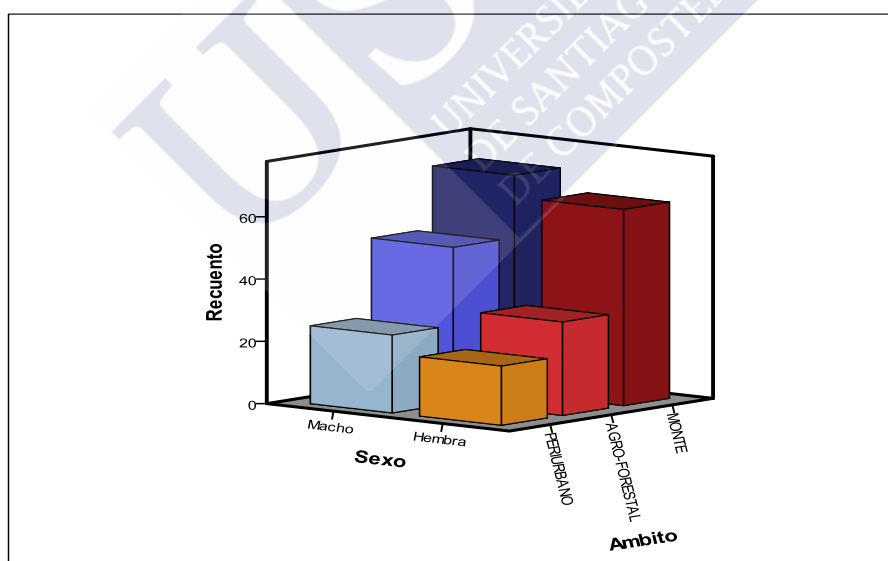
Es lógico que el grupo "adulto" sea el más numeroso si se tiene en cuenta que el muestreo de los animales se realiza en los últimos días de enero y primera quincena de febrero, momento en el que los juveniles han superado su etapa de cachorros y están muy próximos a llegar a edad adulta y, por tanto, han soportado todas las importantes pérdidas de efectivos de ese grupo de población. Además, resulta lógico pensar que los individuos adultos (2-5 años) sean los más numerosos, ya que resulta difícil, y sólo algunos consiguen sobrevivir más de cinco años en el medio natural.

Se debe tener también en consideración que la asignación de la edad se establece de acuerdo con la presencia de piezas dentarias y el desgaste de las mismas, según el patrón general aceptado para cánidos. Dicho método puede ofrecer ciertas imprecisiones; mínimas en nuestro caso

ya que contamos con la ventaja de que los zorros en nuestra latitud nacen en plena primavera (en el mes de abril), por lo que el error cometido, en su caso, será de un año, cosa absolutamente imposible en los animales incluidos en el grupo de jóvenes y difícil en los adultos; aunque no es posible tener la absoluta seguridad de que algún ejemplar de cinco o seis años haya podido clasificarse erróneamente en el grupo que no le corresponde, considerando incorrectamente como geronte a un zorro de 5 años o adulto a uno de seis. Situación que, de ser así, puede haber ocurrido en un número muy reducido de casos y que no reporta graves imprecisiones a un estudio como el que se ha planteado.

SUBGRUPOS POR HÁBITAT	Frecuencia	Porcentaje
Monte	133	51,8
Agroforestal	80	31,1
Periurbano	44	17,1
<b>Total</b>	<b>257</b>	<b>100</b>

**Tabla 16.** Clasificación en grupos en función del hábitat de los zorros estudiados.



**Gráfica 7.** Representación de los grupos de ejemplares estudiados clasificados según sexo y hábitat de procedencia.

Para finalizar este apartado y con el fin de facilitar la comprensión de la composición del grupo de ejemplares estudiados, en la siguiente tabla clasificamos los individuos en razón del sexo, grupo etario y hábitat de procedencia (Tabla 17).

SEXO	Nº/(%*)	Grupo etario	Nº/(%*)	Hábitat de procedencia	Nº/(%*)
<b>Macho</b>	145/ (56,40)	Juvenil	39/(15,80)	Periurbano	7/(2,70)
				Agro-forestal	11/(4,30)
				Monte	21/(8,20)
		Adulto	76/(29,50)	Periurbano	14/(5,40)
				Agro-forestal	27/(10,50)
				Monte	35/(13,60)
		Geronte	30/(11,80)	Periurbano	4/(1,60)
				Agro-forestal	12/(4,70)
				Monte	14/(5,40)
<b>Hembra</b>	112/(43,60)	Juvenil	32/(12,45)	Periurbano	7/(2,70)
				Agro-forestal	10/(3,90)
				Monte	15/(5,80)
		Adulto	54/(21,01)	Periurbano	9/(3,50)
				Agro-forestal	13/(5,10)
				Monte	32/(12,40)
		Geronte	26/(10,12)	Periurbano	3/(1,20)
				Agro-forestal	7/(2,70)
				Monte	16/(6,20)

\*Cifra decimal ajustada a la superior cuando la segunda cifra decimal es >5.

**Tabla 17.** Composición del grupo de estudio en función del sexo, la edad y el hábitat.

## 5.2. VALORES GENERALES DE LOS METALES EN LAS DIFERENTES MUESTRAS

El zorro, por tratarse de un carnívoro oportunista que se adapta extraordinariamente a los recursos que le ofrece su hábitat en cada momento, se presupone como un modelo ideal para la biomonitorización de los metales pesados en el medio natural. Es importante recordar que el zorro, aunque es un carnívoro, consume frutos, insectos, residuos de la actividad humana y casi cualquier materia que pueda digerir (peces, pienso para otros animales, etc.). En virtud de estas características, el zorro puede ofrecer una información completa de la situación del ecosistema en el que vive. Al pertenecer al grupo de los grandes mamíferos, de entre todos los taxones existentes, posee el potencial de acumulación de residuos más elevado (Verschuere, 2001), acumulando gran cantidad de sustancias químicas en sus tejidos, al situarse en las posiciones elevadas de la cadena trófica (Laguna, 2009).

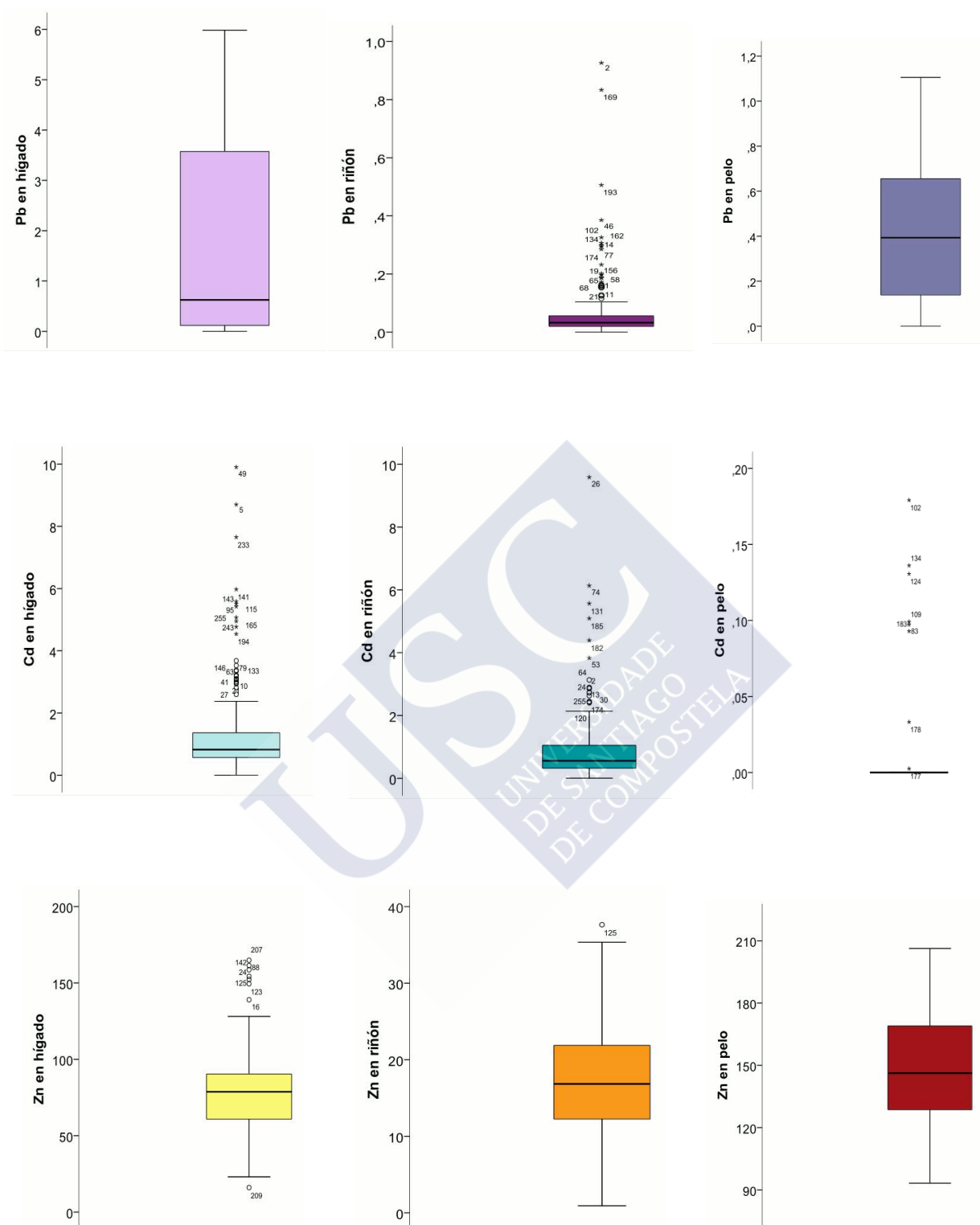
En la tabla 18 y la gráfica 8 se presentan los resultados obtenidos relativos a las concentraciones globales de metales pesados, expresados en partes por millón (ppm) referidas a peso seco, para los tres tejidos considerados. El metal pesado encontrado en mayores concentraciones es el zinc, seguido del plomo y, finalmente, el cadmio. Este orden de concentración resulta lógico si recordamos que el zinc es uno de los elementos esenciales más abundantes en el organismo y que son necesarias cantidades considerables para que se originen trastornos tóxicos (Hermoso de Mendoza et al., 2008). En cambio, tanto el plomo como el cadmio, sin funciones fisiológicas,



suelen presentarse en concentraciones comparativamente bajas. Concretamente, se ha demostrado que a concentraciones relativamente bajas el cadmio es tóxico para todas las formas de vida (Capó, 2002) y que los organismos bioindicadores presentes en el medio parecen ser muy sensibles al mismo (Vargha et al., 2002; Hermoso de Mendoza et al., 2008).

	Nº	Mínimo	Máximo	Mediana	Media
Hígado	257	N.D.	5,984	0,626	1,653
		N.D.	9,90	0,825	1,206
		16,06	164,8	78,75	76,54
Riñón		N.D.	0,926	0,032	0,059
		0,002	9,586	0,556	0,874
		0,924	37,63	16,84	17,10
Pelo		N.D.	1,105	0,393	0,423
		N.D.	0,179	N.D.	0,003
		93,22	206,30	146,20	148,30

**Tabla 18.** Valores globales de concentración (expresados en ppm referido a peso fresco) de plomo, cadmio y zinc en muestras de hígado, riñón y pelo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio.



**Gráfica 8.** Gráfica de barras de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de hígado (izquierda), riñón (centro) y pelo (derecha) de la población de zorros que formó el grupo de estudio.

Por otra parte, un análisis estadístico de correlaciones bivariadas (Tabla 19), realizado para medir la magnitud de relación lineal entre dos variables, mostró correlación positiva estadísticamente muy significativa entre las concentraciones de los tres metales pesados en hígado, siendo significativa la correlación entre las concentraciones de Pb en hígado y riñón, así como entre las de Pb en riñón y Cd en pelo (en ambos casos, con  $p < 0,05$ ). También se observó correlación positiva y estadísticamente significativa entre los valores de Pb en riñón y Cd en pelo ( $p < 0,01$ ). Es de destacar, sin embargo, la correlación altamente significativa observada para el Pb y el Zn en el hígado ( $p < 0,001$ ). En los restantes casos, tal como se puede comprobar en dicha Tabla 19, el coeficiente  $r$  de correlación de Pearson está muy alejado de la unidad, por lo que la variabilidad común de ambas variables ( $r^2$ ) es pequeña. Por tanto, ninguna de las variables restantes constituyentes de cada par es capaz de predecir el valor de la otra, ni tampoco podemos pensar, en vista de estos resultados, que la exposición a uno de los metales supone la exposición a otros.

El análisis de correlación bivariada entre los grupos establecidos al dividir los ejemplares estudiados en grupos diferentes según su edad, sexo o hábitat de procedencia, debido a su interés para este estudio, ha sido considerado en un apartado específico (5.3. Estudio de las correlaciones entre los metales pesados, los diferentes tejidos y según los factores analizados). En el presente apartado se aporta tan solo la tabla de correlaciones bivariadas de la población completa que formó el grupo de estudio (257 ejemplares de ambos sexos, diferentes edades y procedentes de hábitat distintos) para que sirva en el análisis preliminar que se realiza de los datos generales.

La distribución de las concentraciones medias de los metales analizados en los distintos tejidos fue, de mayor a menor acumulación:

Plomo: Hígado > Pelo > Riñón

Cadmio: Hígado > Riñón > Pelo

Zinc: Pelo > Hígado > Riñón

Por tanto, el valor medio de plomo más elevado fue cuantificado en el hígado ( $1,653 \pm 1,884$  mg/kg), siendo el tejido en el que mayor variabilidad se presentó, con un máximo de 5,984 mg/kg y un mínimo por debajo del límite de detección (N.D.). El riñón fue el órgano que presentó el valor medio más bajo ( $0,059 \pm 0,097$  mg/kg), con un máximo de 0,926 mg/kg, y donde se detectaron valores más homogéneos. En el pelo, por su parte, se alcanzó un promedio de  $0,423 \pm 0,306$  mg/kg, con un máximo de 1,105 mg/kg. En todos los tejidos, los valores mínimos se situaron por debajo del límite de detección. Respecto a la relación entre los contenidos de plomo en los diferentes tejidos, tal como se ha referido anteriormente, solo existe correlación de Pearson significativa entre los valores de Pb en hígado y riñón, con valor " $r$ " negativo y próximo a cero ( $-0,124$ ), hecho relacionado con la especial toxicocinética de este metal, de tal forma que su órgano de acumulación es el hígado, frente al riñón, sin prácticamente capacidad acumulativa. Con respecto a estos valores de Pb, las concentraciones

medias para riñón e hígado estaban situadas por debajo de los valores críticos respectivos de 15 y 5 ppm en peso seco, que se consideran como indicativo de la toxicosis en los mamíferos (Ma, 1996), incluso si no se han definido niveles específicos para el zorro. Sin embargo, conviene señalar que concentraciones de plomo en el hígado situadas en el entorno de 25-35 ppm (peso seco) están asociadas con signos clínicos evidentes de envenenamiento en otras especies de mamíferos relacionadas (Ma, 1996). Hay que señalar que algún animal se ha encontrado ligeramente por encima del límite considerado tóxico para el hígado, con un valor máximo de 5,98 ppm (peso seco), lo que indica un riesgo posible y real de envenenamiento por plomo.

	N=267	Pb hígado	Pb riñón	Pb pelo	Cd hígado	Cd riñón	Cd pelo	Zn hígado	Zn riñón	Zn pelo
<b>Pb hígado</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)	1	-0,124 <sup>a</sup> 0,048	-0,063 0,311	-0,183 <sup>aa</sup> 0,003	-0,103 0,099	-0,008 0,896	-0,231 <sup>aa</sup> 0,000	-0,018 0,780	0,036 0,565
<b>Pb riñón</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)		1	-0,016 0,796	0,059 0,345	0,033 0,596	0,126 <sup>a</sup> 0,043	0,056 0,375	-0,021 0,739	-0,044 0,481
<b>Pb pelo</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)			1	0,016 0,795	0,078 0,215	0,095 0,128	0,017 0,782	-0,042 0,500	-0,017 0,791
<b>Cd hígado</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)				1	-0,082 0,189	-0,026 0,673	-0,035 0,581	-0,047 0,457	-0,009 0,886
<b>Cd riñón</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)					1	-0,032 0,608	0,086 0,171	-0,030 0,628	-0,096 0,125
<b>Cd pelo</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)						1	0,029 0,642	0,050 0,426	-0,075 0,231
<b>Zn hígado</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)							1	0,105 0,092	-0,021 0,734
<b>Zn riñón</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)								1	-0,004 0,955
<b>Zn pelo</b>	Cor. Pearson Sig (bilateral)									1

<sup>a</sup>, La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral)

<sup>aa</sup>, La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral)

**Tabla 19.** Correlaciones bivariadas de los tres metales pesados estudiados en los diferentes tejidos.

Al comparar estos resultados con los obtenidos en otros estudios similares, realizados con el zorro como bioindicador, como los efectuados en la región suiza de Zurich (Dip et al., 2001) o en la región de Zemplín en Eslovaquia (Piskorova et al., 2003) se observa que la distribución de los metales en los diferentes tejidos sigue las mismas pautas que las aquí expuestas, aunque con algunas diferencias. En cuanto al plomo en el hígado, el valor promedio obtenido en este estudio supera ligeramente el detectado por Dip et al. (2001), situado en  $1,20 \pm 3,61$  mg/kg, pero la variabilidad observada en esta referencia fue de más del doble.

Las concentraciones hepáticas medias fueron significativamente más altas que las cuantificadas en nutrias y visones de Canadá, donde los valores medios del hígado se encuentran en el rango de 0,21 a 0,79 ppm en peso seco (Harding et al., 1998). Estos valores ahora presentados también fueron superiores a los detectados en el hígado de zorro ártico (*Alopex lagopus*), donde los valores medios eran de 0,53 µg/g (Hoekstra et al., 2003), pero claramente inferiores a los 54,1 µg/g observados en perros por López-Alonso et al. (2006). Dichas diferencias bien podrían suponer una confirmación acerca de la idoneidad del uso del zorro y otros carnívoros domésticos y/o salvajes como bioindicadores, pues los valores más bajos se localizarían en zonas supuestamente menos expuestas a contaminaciones metálicas, mientras que los animales situados en zonas antropogenizadas estarían expuestos a niveles marcadamente superiores. Conviene señalar, sin embargo, que estos estudios se han centrado en especies diferentes, con lo cual este factor tan importante de variabilidad ha de ser tenido en consideración.

Respecto al plomo en riñón, en esta investigación se han cuantificado valores inferiores a los observados en la literatura de referencia. Por un lado Dip et al. (2001) situaron los valores de plomo en este órgano en  $0,57 \pm 0,90$  mg/kg, mientras que Piskorova et al. (2003) los situaron en  $0,38 \pm 0,17$  mg/kg tanto para jabalí como para zorro respectivamente. Por último, para comparar los valores de este metal en pelo con los resultados de otros estudios, han de tomarse en consideración otras especies como el ciervo con 1,319 ppm o el jabalí con 2,270 ppm (Gallego, 2006), de tal forma que en ambos casos se cuantifican valores muy superiores a los aquí detectados.

Con respecto a estudios en otros cánidos salvajes, como es el caso del lobo, Gamberg y Braune (1999) cuantificaron 0,56-1,95 ppm (peso seco) de este metal en muestras de riñón, y 0,11-0,70 ppm (peso seco) en hígado. Es digno de resaltar que el valor máximo hepático cuantificado en los lobos de Canadá se encuentra por encima de 5 ppm en peso seco, que es similar al valor máximo obtenido en el presente estudio. Del mismo modo, Shore et al. (2001) identificaron las concentraciones hepáticas de plomo en lobos rusos, llegando a un nivel máximo de 24,3 ppm en peso seco (cerca de la concentración de residuos considerada umbral y asociada con signos clínicos de intoxicación por plomo).

En el caso del cadmio, ha sido también el hígado el órgano en el que se han encontrado las concentraciones medias más elevadas ( $1,206 \pm 1,339$  mg/kg), siendo también el tejido donde mayor variabilidad se encontró. El valor máximo en este órgano fue de 9,900 mg/kg y el mínimo no alcanzó

el límite de detección. En el riñón se obtuvieron valores medios de  $0,874 \pm 1,020$  mg/kg, con un máximo muy similar al encontrado en el hígado (9,586 mg/kg) y un mínimo de 0,002 mg/kg. En cuanto al pelo, ha sido el tejido en el que se detectaron los valores medios más bajos ( $0,003 \pm 0,019$  mg/kg) y también con una menor variabilidad. El máximo en el pelo se situó en 0,180 mg/kg y el mínimo en este caso tampoco superó el umbral de detección. El incremento de los niveles de Cd en los tejidos renales frente a lo observado previamente con el Pb, refleja fielmente la especial toxicocinética de este metal, con una gran capacidad de excreción a través del tejido renal. A pesar de ello, y curiosamente, los valores más elevados siguen correspondiendo (aunque como se ha indicado con poca diferencia) al tejido hepático.

Respecto a los estudios en otros países europeos sobre zorros, citados anteriormente al considerar el plomo, en el caso del cadmio es posible encontrar matices importantes. Confrontándolos con los datos cuantificados por Piskorova et al. (2003) de  $0,25 \pm 0,08$  mg/kg de cadmio en riñón (no considera los otros dos tejidos) los valores del presente estudio son ligeramente superiores, aunque en ambos casos se sitúan por debajo de la unidad. Sin embargo, la distribución de las concentraciones por tejidos difiere de la registrada por Dip et al. (2001), que encontraron mayores valores medios en el riñón ( $1,45 \pm 1,43$  mg/kg) que en el hígado ( $0,52 \pm 0,51$  mg/kg). Se observa, por tanto, que los valores respecto al cadmio encontrados en la bibliografía presentan disparidades entre sí y respecto a los de nuestro estudio, seguramente como reflejo de los niveles circundantes de contaminación ambiental a que estaban sometidos los animales considerados en cada estudio en concreto.

El predominio de cadmio, tanto en el hígado como en el riñón del zorro, está en línea con estudios anteriores en mamíferos, en los que se ha demostrado que el riñón alcanza concentraciones críticas en comparación con otros órganos (D'Havé et al., 2006; Dodds-Smith et al., 1992; Cooke, 2011; Shore y Douben, 1994), siendo el hígado un lugar secundario de acumulación cuando se excede la capacidad del riñón. Estudios de biomonitorización similares con lobos han mostrado mayores niveles de cadmio a los obtenidos en el presente estudio para el riñón, y menores para el hígado, encontrándose por encima de 0,9 y 2,1 ppm en peso seco, respectivamente para el hígado y el riñón (Gamberg y Braune, 1999). En concreto, en el tejido renal de los lobos de Idaho fueron cuantificadas mayores concentraciones de cadmio renal (Hoffmann et al., 2010). Los resultados obtenidos con los zorros españoles sugieren que los niveles observados se encuentran significativamente por debajo de los niveles de toxicidad aguda (Puls, 1994). Siguiendo con este estudio comparativo con otras especies animales similares al zorro objeto del presente estudio, los valores del cadmio en el hígado de zorros de Galicia fueron marcadamente superiores a los reportados en una amplia gama de mamíferos carnívoros de Canadá (0,1-0,3 ppm peso seco), Finlandia e incluso el sur de España (0,05 a 0,12 ppm peso seco) (Harding et al., 1998; Hoekstra et al., 2003; Hyvarinen et al., 2003; Millán et al., 2008<sup>a</sup>).

Respecto a las concentraciones de cadmio en el pelo, no han podido localizarse referencias de estudios similares al nuestro también desarrollados en zorros y en los que se estudie el cadmio en

el pelo, para poder así comparar los resultados. Tal vez este hecho se debe a las bajas concentraciones de ese metal en la muestra; lo que dificulta su determinación, debe recordarse que las concentraciones de cadmio en las muestras de pelo analizadas son muy bajas, en la gran mayoría de casos situados por debajo del límite de detección (el 96,9% del total) y que sólo algunos ejemplares poseían valores apreciables por lo que únicamente se pueden ofrecer los resultados para compararlos con estudios futuros (Tabla 20).

Cd en pelo ( $\mu\text{g/g}$ tejido fresco)					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
<b>Válidos</b>	0,0000	249	96,90	96,90	96,90
	0,0025	1	0,40	0,40	97,30
	0,0332	1	0,40	0,40	97,70
	0,0929	1	0,40	0,40	98,10
	0,0972	1	0,40	0,40	98,40
	0,0992	1	0,40	0,40	98,80
	0,1306	1	0,40	0,40	99,20
	0,1361	1	0,40	0,40	99,60
	0,1791	1	0,40	0,40	100
	Total	257	100	100	

**Tabla 20.** Tabla de frecuencias de las concentraciones de Cd en muestras de pelo.

Comparado con otras especies, el zorro ha presentado concentraciones medias de cadmio en hígado superiores a las encontradas en el zorro ártico ( $0,18 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$  en Hoekstra et al., 2003) y muy inferiores a las detectadas en perros ( $51,2\text{--}62,0 \mu\text{g/g}$  en López-Alonso et al., 2006), ocurriendo lo mismo en estos últimos si se trata del riñón ( $147\text{--}188 \mu\text{g/g}$ ). La explicación de esta diferencia podría ser la misma que la comentada previamente en el caso del plomo, asociada a la diferente carga contaminante de los ecosistemas considerados, no guardando relación con la especie animal estudiada.

Finalmente, el zinc es, como ya se ha indicado, el metal estudiado en esta tesis con mayores concentraciones medias. Además, el tejido en el que se encuentran sus promedios y variabilidad más altos es el pelo ( $148,3 \pm 26,92 \text{ mg/kg}$ ), con un máximo de  $206,300 \text{ mg/kg}$  y un mínimo de  $93,220 \text{ mg/kg}$ . De la misma forma que ocurría con el cadmio, no se dispone de valores de referencia para el



zinc en pelo de zorros dentro de los estudios consultados, por lo cual para poder hacer alguna comparación de los presentes resultados han de tenerse en consideración estudios realizados en otras especies.

Como se ha indicado, el segundo tipo de tejido donde se encuentran valores medios de zinc más altos es el hígado, con casi la mitad de los que se cuantificaban en pelo ( $76,54 \pm 25,30$  mg/kg), así como un máximo de 164,80 mg/kg y un mínimo de 16,06 mg/kg. En tercer lugar, las concentraciones medias más bajas de zinc se encontraron en el riñón ( $17,10 \pm 7,00$  mg/kg), con un máximo de 37,63 mg/kg y un mínimo de 0,924 mg/kg. Esta distribución de las concentraciones coincide con la recogida por Dip et al. (2001), que también encuentran mayores cantidades en el hígado ( $44,90 \pm 16,70$  mg/kg) que en el riñón ( $21,20 \pm 7,80$  mg/kg). Para ambos tejidos, los valores medios del presente estudio llevado a cabo en Galicia se encuentran dentro o muy próximos a sus rangos de variación. Este elemento es el predominante también en el cabello humano, y resultados similares se han observado en los erizos y en otras especies de micromamíferos (D'Havé et al., 2006; Miekeley et al., 1998).

Las concentraciones de zinc que se consideran como indicativas de potenciales efectos tóxicos en los mamíferos son 274 y 465 ppm en peso seco, respectivamente, para los riñones y el hígado (Eisler, 1993). Incluso los valores máximos obtenidos en el presente estudio no se acercaron a las concentraciones indicativas de posibles efectos tóxicos a los zorros.

Hermoso de Mendoza et al. (2011) encontraron acumulaciones superiores de zinc en el pelo del lobo ibérico ( $205,242 \pm 60,062$  mg/kg), pero no incluyeron en su estudio otro tipo de tejidos. En el campo de los herbívoros, el estudio sobre los alces en el norte de Alaska realizado por O'Hara et al. (2001) informa de la presencia de mayores concentraciones de zinc en pelo, luego en hígado y, finalmente, en riñón, como ocurre en nuestro caso. En general, los niveles de Zn obtenidos en el presente estudio en hígado y riñón son más bajos que los cuantificados en lobos árticos (Gamberg y Braune, 1999; Lamothe, 1991), pero muy similares a los obtenidos para los lobos de otras áreas de los EE.UU. (Hoffmann et al., 2010). Curiosamente, los lobos de Alaska tenían niveles significativamente más altos de Zn que los lobos del resto de los EE.UU. Debe tenerse en cuenta que los metales pesados en la cadena alimentaria pueden originarse a través de depósitos minerales naturales locales o a través del transporte atmosférico a larga distancia. Los lobos de Alaska fueron muestreados principalmente en áreas con importantes depósitos de minerales y una importante historia de minería aluvial (Hoffmann et al., 2010). Hay que señalar, por último, que la comparación de las concentraciones de elementos metálicos entre áreas geográficas y especies debe tomarse con cautela, ya que las diferencias de edad y de las técnicas de análisis pueden influir en la interpretación final de los datos (López-Alonso et al., 2007).



### 5.2.1. FACTORES DE VARIACIÓN ENDÓGENOS: SEXO Y EDAD

La literatura sobre el proceso de biomonitorización y los factores que influyen en los niveles de contaminación de los tejidos suele distinguir entre factores internos o endógenos (edad, sexo, alimentación...) y externos o exógenos (hábitat, estacionalidad, orografía, tipos de suelos y cultivos...) (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

En este contexto, es importante considerar la variable género en los estudios de Ecotoxicología ya que, en principio, resulta lógico esperar que la acumulación y metabolismo de metales pesados pueda variar en función de este factor, sobre todo en especies con un elevado dimorfismo sexual. Por ejemplo, los machos suelen tener mayor tamaño y, gracias a ello, consiguen presas mayores, muchas veces con mayores niveles de contaminantes (Burger et al., 2002). La acumulación de agentes químicos y la propensión según género a esta acumulación puede depender de muchos factores como los cambios en la tasa metabólica, el estado hormonal, el estado reproductivo y las variaciones de tamaño de un ejemplar (Burger et al., 2007). No se trata aquí de entrar a valorar las causas de las variaciones según sexo, pero sí de observar si se producen en nuestro estudio y tener presente de dónde pueden provenir.

En relación con lo anterior, cabe señalar que, según Travaini y Delibes (2006) en un estudio realizado sobre ejemplares de zorro común en Doñana, el grado de dimorfismo sexual es pequeño y sólo se produce entre ejemplares adultos. En Galicia, en un estudio realizado por Fidalgo et al. (2009) se observó que entre los ejemplares muestreados, los machos presentaron un peso medio de 8,09 kg y las hembras de 6,56 kg, lo cual supone que por término medio una hembra posee sólo el 81,09% de la masa corporal del macho. Sin embargo, otro aspecto (bien conocido en algunas especies domésticas) que se debe considerar, es la mayor necesidad de nutrientes de las hembras durante la gestación y lactación lo cual, en nuestra opinión, condiciona un razonable mayor ingreso de alimentos -incluso más indiscriminado en las épocas más críticas- en el caso de las hembras que en los machos, lo que teóricamente facilita la ingesta de contaminantes. Desconocemos si este incremento de necesidades de las hembras durante las épocas de reproducción compensarán o superarán las diferencias de los machos por su mayor masa corporal (Tataruch y Kierdorf, 2003).

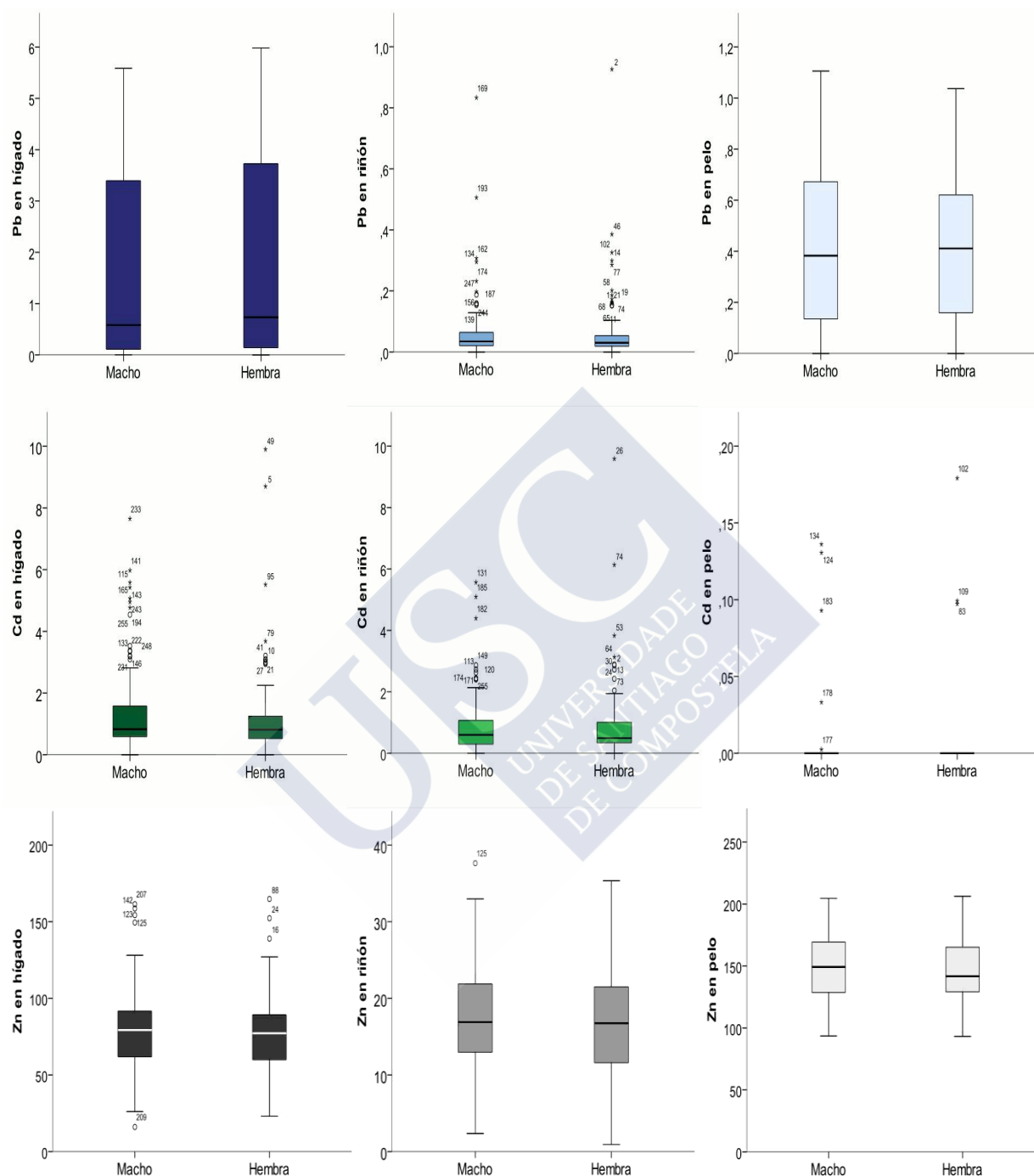
En la tabla siguiente (Tabla 21) se reflejan los valores de Pb, Cd y Zn en hígado, riñón y pelo para los dos grupos formados en razón del género (macho y hembra). De forma similar en la Gráfica 9 se muestran los resultados, refiriendo los percentiles al 10, 25, 50 (mediana), 75 y 90%, los valores extremos y los valores atípicos.

			Nº	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. típica
<b>Machos</b>	Hígado	Pb	145	0,002	5,586	0,581	1,575	1,864
		Cd		N.D.	7,650	0,825	1,255	1,293
		Zn		16,06	161,4	79,32	77,48	25,72
	Riñón	Pb		N.D.	0,833	0,034	0,058	0,090
		Cd		0,002	5,564	0,597	0,867	0,868
		Zn		2,365	37,64	16,90	17,33	6,981
	Pelo	Pb		N.D.	1,105	0,383	0,427	0,32
		Cd		N.D.	0,136	N.D.	0,003	0,02
		Zn		93,50	204,6	149,2	148,6	27,28
<b>Hembras</b>	Hígado	Pb	112	N.D.	5,984	0,733	1,755	1,913
		Cd		N.D.	9,900	0,812	1,143	1,398
		Zn		23,06	164,8	77,20	75,31	24,79
	Riñón	Pb		N.D.	0,926	0,030	0,061	0,106
		Cd		0,002	9,586	0,493	0,884	1,192
		Zn		0,92	35,35	16,76	16,80	7,051
	Pelo	Pb		N.D.	1,036	0,411	0,418	0,284
		Cd		N.D.	0,179	N.D.	0,003	0,021
		Zn		93,22	206,3	141,7	147,9	26,56

**Tabla 21.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de plomo, cadmio y zinc en muestras de hígado, riñón y pelo de zorro en función del sexo.

Frente a lo que cabría esperar, no se observan, en general, concentraciones mayores de metales pesados en las hembras como consecuencia de la ingesta de una mayor cantidad de comida por kilogramo de peso, circunstancia argumentada por algunos investigadores específicamente para el Cd (Tataruch y Kierdorf, 2003).

Respecto al zinc, es el metal en el que se observan mayores diferencias, aunque sin diferencias estadísticamente significativas, presentando siempre valores mayores en los machos. El pelo, como es lógico, es el tejido con mayor cantidad de Zn, con cifras próximas a 148 ppm, mientras que las concentraciones en hígado son aproximadamente la mitad de esta cifra y el Zn en las muestras de riñón sólo alcanza cifras próximas a 17 ppm.



**Gráfica 9.** Representación de cajas de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en los subgrupos de machos y hembras. Las cajas indican los percentiles al 10, 25, 50 (mediana), 75 y 90%, los valores extremos (\*) y los valores atípicos (°).

Con respecto al sexo, pueden ser observados en la literatura resultados contradictorios con variaciones entre especies, poblaciones, órganos o entre los distintos metales, e incluso en muchas ocasiones no se detecta ningún efecto del sexo para alguno de los metales no sólo para pequeños mamíferos (Fritsch et al., 2010; González et al., 2008; Sánchez-Chardi et al., 2007; Topolska, 2004), sino también para cánidos y otras especies relacionadas (Dip et al., 2001; Hoekstra et al., 2003). Además, no es extraño que uno de los géneros muestre niveles más altos de un metal en particular en el hígado, mientras que el otro pueda mostrar niveles más altos en el riñón (Beernaert et al., 2007; Gochfeld, 1997; Millan et al., 2008). Por otra parte, puede ser que el patrón de género para los metales se complique por el estado reproductivo y la época del año en que tenga lugar el muestreo (Burger, 2007; Robillard et al., 2002), así como las diferencias de género también podría estar asociadas a los hábitos de alimentación diferencial entre machos y hembras, como se ha indicado ya, o la dinámica de metales diferentes, cuestiones que deben ser aclaradas (Millán et al., 2008).

Sin embargo, y a pesar de lo anteriormente expuesto, la influencia del sexo en los niveles de cadmio ha sido demostrada en varias especies en las que las hembras presentan concentraciones más elevadas que los machos, posiblemente debido a que las hembras consumen más comida por kilogramo de peso que los machos (Hermoso de Mendoza et al., 2011), aunque estas diferencias no suelen ser significativas desde el punto de vista estadístico (Tataruch y Kierdorf, 2003). Uno de los primeros estudios que constataba este hecho se realizó en pelo de caballo (*Equus caballus*) (Anke et al., 1989). Otro estudio posterior realizado también en pelo de caballo y tendente a determinar la influencia del sexo, mostraba unas concentraciones medias de cadmio de  $0,15 \pm 0,13 \mu\text{g/g}$  en el caso de los caballos y  $0,09 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$  en las yeguas (Asano et al., 2002).

Diversos autores concluyen que no existe una clara influencia del sexo en la acumulación de plomo (Tataruch y Kierdorf, 2003; Medvedev, 1999). Sin embargo, un trabajo ya referido realizado en pelo de perro cuantificaba  $1,77 \pm 1,05 \mu\text{g/g}$  y  $2,06 \pm 1,14 \mu\text{g/g}$  de plomo en machos y hembras respectivamente (Hayashi et al., 1981). Por su parte, un estudio en pelo de caballo observaba que las concentraciones de plomo eran de  $0,76 \pm 0,28 \mu\text{g/g}$  para los caballos y  $1,24 \pm 1,28 \mu\text{g/g}$  en el caso de las yeguas (Asano et al., 2002). Si bien los valores cuantificados en zorros y perros son relativamente similares entre sí, no ocurre igual con los cuantificados en caballos y yeguas. Esto último era presumible, pues tanto zorros como perros, debido a sus hábitos alimenticios, pudieran haber ingerido presas, ya sean estas aves o pequeños mamíferos, que habían sido abatidas por cazadores y así, incorporar dicho metal activamente a sus organismos (Mateo et al., 1998).

Por último, con respecto al zinc, es como ya se ha indicado, uno de los elementos esenciales más abundantes en el organismo (Repetto, 1995), de ahí los elevados niveles cuantificados. Estudios similares efectuados en perros cuantificaban  $205,4 \pm 39,7 \mu\text{g/g}$  de zinc en pelo perteneciente a los machos y  $210,2 \pm 44,6 \mu\text{g/g}$  en hembras (Hayashi et al., 1981). El estudio posterior de Asano et al. (2002) coincidía con estas observaciones, encontrando unas concentraciones de zinc en yeguas ( $92 \pm 25 \mu\text{g/g}$ ) superiores a las halladas en los caballos ( $88,0 \pm 31 \mu\text{g/g}$ ).

En definitiva, en cuanto al sexo, en el presente trabajo se ha observado que no existe una pauta concreta respecto a la acumulación de metales pesados con relación al género. En el caso de unos metales se determinan cantidades mayores en machos y en otros casos en hembras; incluso el mismo metal adquiere valores mayores en un tejido para un sexo y en otro tejido para el sexo contrario. Dicho esto, debe tenerse presente que las diferencias entre los valores medios son pequeñas y que, además, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en ningún caso (Tabla 22).

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
<b>Pb en hígado</b>	Se han asumido varianzas iguales	0,202	0,653	-0,758	255	0,449
<b>Pb en riñón</b>	Se han asumido varianzas iguales	0,849	0,358	-0,264	255	0,792
<b>Pb en pelo</b>	Se han asumido varianzas iguales	2,575	0,11	0,246	255	0,806
<b>Cd en hígado</b>	Se han asumido varianzas iguales	0,733	0,393	0,665	255	0,507
<b>Cd en riñón</b>	Se han asumido varianzas iguales	0,501	0,48	-0,131	255	0,896
<b>Cd en pelo</b>	Se han asumido varianzas iguales	0,298	0,586	-0,259	255	0,796
<b>Zn en hígado</b>	Se han asumido varianzas iguales	0,105	0,746	0,683	255	0,495
<b>Zn en riñón</b>	Se han asumido varianzas iguales	0,082	0,775	0,593	255	0,554

**Tabla 22.** Diferencia de medias entre el grupo de machos y hembras para las concentraciones de Pb, Cd y Zn en hígado, riñón y pelo. La tabla expresa los resultados del test “t” de Student para muestras independientes, asumiendo en todos los casos varianzas iguales.

En términos generales, ambos sexos comparten la pauta general de distribución que se recogía anteriormente para los diferentes metales estudiados:

Plomo: Hígado > Pelo > Riñón

Cadmio: Hígado > Riñón > Pelo

Zinc: Pelo > Hígado > Riñón

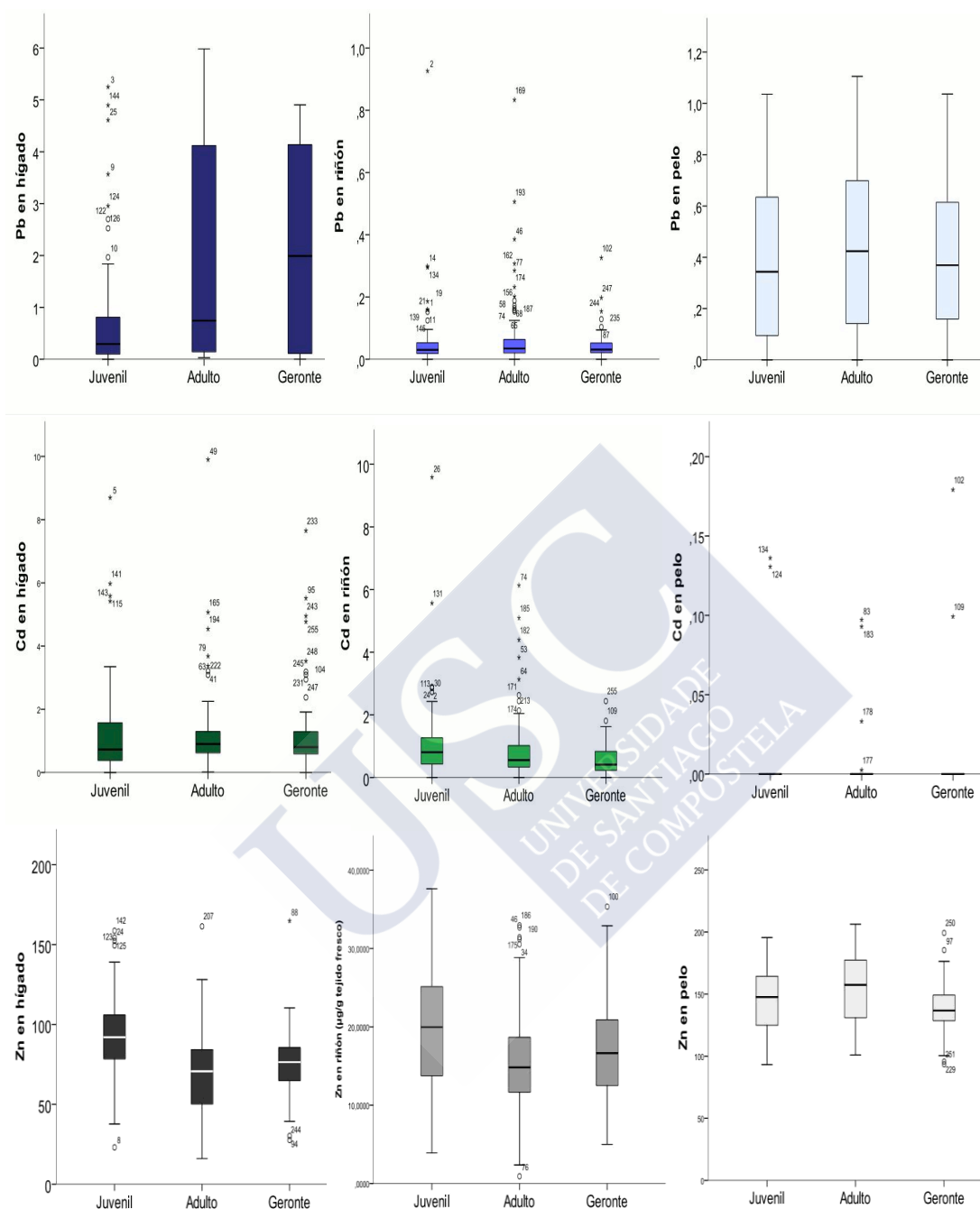
En cuanto a la otra variable endógena considerada, la edad, hay que tener en cuenta que es un factor ligado fuertemente a la cantidad de contaminante medido, pues determina, especialmente cuando se trata de xenobióticos bioacumulables, la duración de la acumulación de éstos en el organismo (Hermoso de Mendoza et al., 2008; 2011). No existe un consenso en la literatura sobre la existencia de una pauta acumulativa de los metales conforme aumenta la edad, aunque en algunos estudios se ha observado una tendencia al incremento con el paso de juvenil a adulto (Pedersen y Lierhagen, 2006). El mejor ejemplo de este fenómeno acumulativo, según algunos investigadores, es el cadmio; sin embargo, en cuanto al plomo la edad no parece ser un factor importante (Tataruch y Kierdorf, 2003).

En la tabla siguiente (Tabla 23) se pueden observar los valores de concentración de plomo, cadmio y zinc (expresados en ppm referido a peso seco) de las muestras de hígado, riñón y pelo de los diferentes grupos de edad de zorros considerados en el presente estudio. De forma similar, y tal como se hizo antes para el factor sexo, en la Gráfica 10 se muestran los resultados, refiriendo los percentiles al 10, 25, 50 (mediana), 75 y 90%, los valores extremos y los valores atípicos, atendiendo al factor edad.

Es posible establecer que, en términos generales, las concentraciones medias de metales pesados más elevadas se producen en menor medida entre los ejemplares jóvenes, pero no en todos los casos, mientras que adultos y gerontes alcanzan las mayores concentraciones sin una pauta definida (Tabla 23). Además, es importante considerar que, tal como es posible observar en la tabla 24 y la Gráfica 10, al analizar la posible diferencia de las medias de los grupos formados en razón de la edad, mediante un análisis de varianza, en el que se ha procedido a realizar la *prueba robusta de analisis de varianza de Welch*, solo existen diferencias entre los grupos respecto al plomo en el hígado, el cadmio en riñón y el zinc en los tres tejidos analizados (Tabla 24).

			Nº	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. típica
<b>Jóvenes</b>	<b>Hígado</b>	Plomo	71	N.D.	5,25	0,276	0,746	1,137
		Cadmio		N.D.	8,699	0,71	1,217	1,561
		Zinc		23,06	158,60	92,03	92,35	25,86
	<b>Riñón</b>	Plomo		N.D.	0,926	0,03	0,063	0,12
		Cadmio		0,002	9,586	0,836	1,135	1,37
		Zinc		3,91	37,63	20,08	19,81	7,793
	<b>Pelo</b>	Plomo		N.D.	1,036	0,328	0,394	0,315
		Cadmio		N.D.	0,136	0,000	0,004	0,022
		Zinc		93,22	195,60	149,50	145	26,35
<b>Adultos</b>	<b>Hígado</b>	Plomo	130	0,03	5,984	0,748	1,967	2,062
		Cadmio		0,012	9,90	0,913	1,165	1,122
		Zinc		16,06	161,40	70,52	68,44	22,32
	<b>Riñón</b>	Plomo		0,000	0,833	0,342	0,062	0,099
		Cadmio		0,002	6,133	0,556	0,855	0,928
		Zinc		0,924	32,98	14,83	15,66	6,437
	<b>Pelo</b>	Plomo		0,000	1,105	0,424	0,444	0,314
		Cadmio		0,000	0,097	0,000	0,002	0,012
		Zinc		101	206,30	156,80	154,50	27,64
<b>Gerontes</b>	<b>Hígado</b>	Plomo	56	0,002	4,904	1,99	2,075	1,85
		Cadmio		0,000	7,65	0,80	1,29	1,508
		Zinc		27,67	164,80	76,44	75,29	21,90
	<b>Riñón</b>	Plomo		0,000	0,326	0,031	0,049	0,053
		Cadmio		0,002	2,439	0,412	0,588	0,512
		Zinc		4,994	35,35	16,65	17	6,279
	<b>Pelo</b>	Plomo		0,000	1,036	0,369	0,411	0,278
		Cadmio		0	0,179	0,000	0,005	0,027
		Zinc		93,5	199,20	136,70	138,2	22,13

**Tabla 23.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso fresco) de plomo, cadmio y zinc en muestras de hígado, riñón y pelo de zorro en función del grupo de edad.



**Gráfica 10.** Representación de cajas de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en los subgrupos de edad. Las cajas indican los percentiles al 10, 25, 50 (mediana), 75 y 90%, los valores extremos (\*) y los valores atípicos (°)



	Prueba de homogeneidad de varianzas				Pruebas robustas de igualdad de las medias			
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.	Estadístico de Welch <sup>a</sup>	gl1	gl2	Sig.
<b>Pb en hígado</b>	55,95	2	254	0	19,49	2	135,91	0
<b>Pb en riñón</b>	1,387	2	254	0,252	0,793	2	147,651	0,455
<b>Pb en pelo</b>	0,829	2	254	0,438	0,513	2	135,549	0,6
<b>Cd en hígado</b>	5,25	2	254	0,006	0,245	2	114,914	0,783
<b>Cd en riñón</b>	3,873	-2	254	0,022	6,334	2	143,624	0,002
<b>Cd en pelo</b>	2,571	2	254	0,078	0,543	2	100,08	0,583
<b>Zn en hígado</b>	1,196	2	254	0,304	20,543	2	129,216	0
<b>Zn en riñón</b>	2,948	2	254	0,054	7,342	2	128,862	0,001
<b>Zn en pelo</b>	5,404	2	254	0,005	9,959	2	139,45	0

a. Distribuidos en F asintóticamente.

**Tabla 24.** Prueba de Levene de homogeneidad de varianzas y pruebas robustas de igualdad de las medias de Welch para los parámetros estudiados en los subgrupos establecidos según la edad (joven, adulto y geronte).

Como en el análisis anterior, se ha podido comprobar que para algunos de los parámetros existen diferencias significativas entre las medias de al menos dos grupos, pero no es posible saber qué grupos son los diferentes, por lo cual se procedió con un análisis posterior para contraste de medias dos a dos (contrastos *a posteriori* o pruebas *post hoc*) empleando en este caso DMS como contraste *a posteriori*. En la tabla de comparaciones múltiples DMS (Tabla 25), es posible comprobar que las diferencias entre grupos que se identifican con ANOVA se producen entre los siguientes grupos:

- Grupo de jóvenes con adultos y gerontes para el plomo en hígado.
- Grupo de jóvenes con adultos y gerontes para zinc en hígado y riñón
- Grupos de jóvenes con adultos y de adultos con gerontes respecto al zinc en el pelo.

Antes de continuar, cabe introducir aquí una precaución respecto al análisis de la variable edad: en la mayoría de los estudios publicados, la variable edad no aparece con sus valores individuales sino con los valores medios de diferentes categorías de edad (heterogéneas internamente), por lo que hay que tener presente la posibilidad de algunas distorsiones en los resultados (Gallego, 2006).

Comparaciones múltiples Scheffé					
Variable dependiente	(I) Grupos de edad	(J) Grupos de edad	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Pb en hígado	Juvenil	Adulto	-1,2039976*	0,2657388	0,000
		Geronte	-1,3122194*	0,3218569	0,000
	Adulto	Juvenil	1,2039976*	0,2657388	0,000
		Geronte	-0,1082218	0,289078	0,932
	Geronte	Juvenil	1,3122194*	0,3218569	0,000
		Adulto	0,1082218	0,289078	0,932
Cd en riñón	Juvenil	Adulto	0,2637174	0,1480312	0,207
		Geronte	0,5349619*	0,1792921	0,013
	Adulto	Juvenil	-0,2637174	0,1480312	0,207
		Geronte	0,2712445	0,1610325	0,244
	Geronte	Juvenil	-0,5349619*	0,1792921	0,013
		Adulto	-0,2712445	0,1610325	0,244
Zn en hígado	Juvenil	Adulto	23,3908705*	3,4340866	0,000
		Geronte	16,6079008*	4,1592885	0,000
	Adulto	Juvenil	-23,3908705*	3,4340866	0,000
		Geronte	-6,7829697	3,7356942	0,194
	Geronte	Juvenil	-16,6079008*	4,1592885	0,000
		Adulto	6,7829697	3,7356942	0,194
Zn en riñón	Juvenil	Adulto	4,1249129*	1,0012259	0,000
		Geronte	2,7737347	1,2126623	0,075
	Adulto	Juvenil	-4,1249129*	1,0012259	0,000
		Geronte	-1,3511782	1,0891612	0,464
	Geronte	Juvenil	-2,7737347	1,2126623	0,075
		Adulto	1,3511782	1,0891612	0,464
Zn en pelo	Juvenil	Adulto	-10,3297231*	3,8416682	0,028
		Geronte	6,3080089	4,6529421	0,40
	Adulto	Juvenil	10,3297231*	3,8416682	0,028
		Geronte	16,6377320*	4,1790727	0,000
	Geronte	Juvenil	-6,3080089	4,6529421	0,40
		Adulto	-16,6377320*	4,1790727	0,000

**Tabla 25.** Comparaciones múltiples por el método Scheffé entre los grupos de edad para las concentraciones de Pb, Cd y Zn en los tres tejidos estudiados. En esta tabla, para hacer más fácil su interpretación, se han eliminado los datos relativos a los parámetros en los que no existían diferencias entre ningún grupo (ver tabla 23).

En un análisis más profundo de los resultados se observa que la concentración de plomo en el hígado constituye el único caso en el que se determina con claridad un proceso acumulativo conforme aumenta la edad, detectándose los menores promedios en el grupo juvenil ( $0,746 \pm 1,137$  mg/kg) y los mayores entre los gerontes ( $2,075 \pm 1,849$  mg/kg). En cambio, las concentraciones medias de plomo en riñón y pelo no poseen diferencias estadísticas entre los grupos, por lo que no debemos considerar sus diferencias como tales desde el punto de vista estadístico.

Con respecto al plomo, un estudio realizado en perros (Hayashi et al., 1981) mostraba valores de  $0,81 \pm 0,25$  µg/g en cachorros,  $1,91 \pm 0,74$  µg/g en los individuos entre 2 y 4 años,  $2,20 \pm 1,02$  µg/g en los individuos entre 5 y 7 años y  $2,00 \pm 1,2$  µg/g en los individuos mayores de 7 años, indicando, por tanto, un incremento progresivo a medida que el animal envejecía. En pelo de caballo se obtuvieron concentraciones de  $0,71 \pm 0,02$  µg/g (2 años),  $1,13 \pm 1,31$  µg/g (3 años),  $0,92 \pm 0,36$  µg/g (4 años) y  $0,77 \pm 0,29$  µg/g (5 años) (Asano et al., 2002), observándose también una tendencia a concentrarse cada vez más en función de la edad (aunque no tan evidente). Volviendo al estudio realizado en pelo de perros, éste concluía la no existencia de un patrón de acumulación del plomo en función de la edad (Hayashi et al., 1981), como también podría afirmarse para los zorros en función de los resultados obtenidos salvo en el caso del hígado. Coinciden estos resultados con otros autores que afirman que la edad no parece ser un factor significativo en la acumulación del mismo en los tejidos blandos, pero sí lo es en los tejidos calcificados del esqueleto debido a la prolongada vida media que el plomo posee en los huesos (Tataruch y Kierdorf, 2003). Para este metal, si el aumento de las concentraciones con la edad está bien establecido en los huesos, el principal sitio de almacenamiento (90%) de plomo en los mamíferos, en algunos casos se ha demostrado una clara influencia de la edad en los niveles de este metal pesado (Hyvarinen et al., 2003; Millán et al., 2008<sup>b</sup>). No obstante, un aumento con la edad en los tejidos blandos no se ha demostrado en otros mamíferos, como por ejemplo roedores (Fritsch et al., 2010) y lobos (Hoffmann et al., 2010), o incluso los resultados han indicado lo contrario (Beernaert et al., 2007).

Respecto al cadmio, no se encontró una pauta clara en función de la edad y tan sólo existen diferencias significativas entre los grupos juvenil y geronte para el cadmio en riñón (Tabla 25). Pero además, las concentraciones de cadmio en el riñón presentan una pauta decreciente, detectándose entre los jóvenes los valores medios más altos ( $1,135 \pm 1,370$  mg/kg) y los más bajos en los gerontes ( $0,588 \pm 0,512$  mg/kg) (Tabla 23). Por tanto, nuestros resultados difieren con los encontrados en la bibliografía consultada, que en general afirma que el cadmio es el más típico de los metales pesados cuyo contenido se incrementa con la edad. Numerosos estudios demuestran la existencia de una relación positiva entre la edad y la acumulación del cadmio, sobre todo, en cuanto a órganos internos se refiere, en riñones (Tataruck y Kierdorf, 2003) y en hígado (Nostrom et al., 1986; Braune et al., 1991; Dietz et al., 2000). Los valores hallados en un estudio realizado en pelo de perros clasificados en cuatro grupos de edad diferentes (menores de 1 año, 2-4 años, 5-7 años y mayores de 7) eran inferiores tanto en los cachorros ( $0,39 \pm 0,15$  µg/g), como en los adultos ( $0,22 \pm 0,11$  µg/g), mientras que los valores más

altos se cuantificaban en las edades intermedias ( $0,44 \pm 0,29 \mu\text{g/g}$  y  $0,56 \pm 0,26 \mu\text{g/g}$  en los individuos de 2-4 años y 5-7, respectivamente). Sin embargo, en ningún caso en este estudio obtenían grados de significación (Hayashi et al., 1981).

Resultados similares a los obtenidos por nosotros se han observado otros estudios en zorro común (Dip et al., 2001) y mustélidos (Harding et al., 1998; Hyvarinen et al., 2003), no sólo en el riñón, sino también en el tejido hepático. Sin embargo, López-Alonso et al. (2007) observaron un aumento más notable de cadmio renal en perros en los primeros años de la vida. El estudio realizado en pelo de caballos jóvenes (2,3 4 y 5 años) obtenía unos valores de cadmio de  $0,04 \pm 0,00 \mu\text{g/g}$  (2 años),  $0,11 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$  (3 años),  $0,11 \pm 0,14 \mu\text{g/g}$  (4 años) y  $0,20 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$  (5 años) (Asano et al., 2002), lo que mostraría una ligera tendencia a concentrarse cada vez más en función de la edad. Hay que recordar, como se mencionó anteriormente, que el cadmio suele presentarse en valores muy bajos en los grandes carnívoros porque no se acumula en el músculo, tan abundante en la dieta de éstos (Tataruck y Kierdorf, 2003). Para este metal pesado, los efectos tanto de sexo como de edad sobre sus acumulaciones ponen de relieve la necesidad de comparar animales de características similares o de incluir estas dos variables en el análisis de datos para los posteriores estudios de biomonitorización.

En cuanto al tercer metal analizado, el zinc, el grupo de ejemplares jóvenes se diferencia de los otros dos grupos por sus concentraciones de zinc tanto en hígado como en riñón, aunque en este último caso la diferencia es sólo entre juvenil y adulto, mostrando esa misma tendencia (sin llegar a la significación -0,075-) entre los jóvenes y los gerontes. Respecto a las concentraciones de zinc del pelo, sólo existen diferencias estadísticas entre el grupo de adultos y los otros dos grupos de edad. Además, tal como podemos comprobar en la Tabla 23, las concentraciones de zinc en hígado y riñón son mayores en los individuos más jóvenes, mientras que en el caso del pelo son los adultos los que poseen cantidades significativamente mayores de zinc que los otros dos grupos.

Esta ausencia de diferencias en función de la edad para el zinc son contrarias a lo obtenido en otros estudios centrados en los osos polares (Dietz et al., 2000) y bovinos (López Alonso et al., 2000). La ausencia de un claro efecto relacionado con la edad en la acumulación de zinc se ha indicado anteriormente en un amplio espectro de especies (Dip et al., 2001; Hoffmann et al., 2010; Hyvarinen et al., 2003; Millan et al., 2008). Este hecho podría estar de acuerdo con las hipótesis que indican que, en niveles bajos a moderados de exposición, ciertos mecanismos homeostáticos son eficientes para mantener algunas concentraciones de metales esenciales dentro de un rango estrecho en el cuerpo de los vertebrados (Beernaert et al., 2007; Milton et al., 2003). Es de destacar que para los elementos considerados fisiológicos, Hunter et al. (1989) en sus investigaciones realizadas en distintos micromamíferos, como *Apodemus sylvaticus*, *Microtus agrestis* y *Sorex araneus*, al igual que hicieron Milton y Johnson (1999), confirmaron la no influencia del factor edad, de tal forma que el contenido de zinc en los órganos parecía ser constante e independiente de su edad.

Un estudio realizado en pelo de caballos estableció unos valores de zinc de  $86,0 \pm 40,7 \mu\text{g/g}$  (2 años),  $81,6 \pm 7,2 \mu\text{g/g}$  (3 años),  $77,5 \pm 32,5 \mu\text{g/g}$  (4 años) y  $101,7 \pm 14,9 \mu\text{g/g}$  (5 años) (Asano et al.,

2002). El trabajo de Zongping (2003) realizado en pelo de camellos adultos de China obtuvo valores de  $146,9 \pm 18,2 \mu\text{g/g}$ . Se trata, en todo momento, de resultados muy similares a los obtenidos en nuestra investigación, pues los valores más altos se presentan en los ejemplares adultos y jóvenes, siendo estos últimos los más elevados.

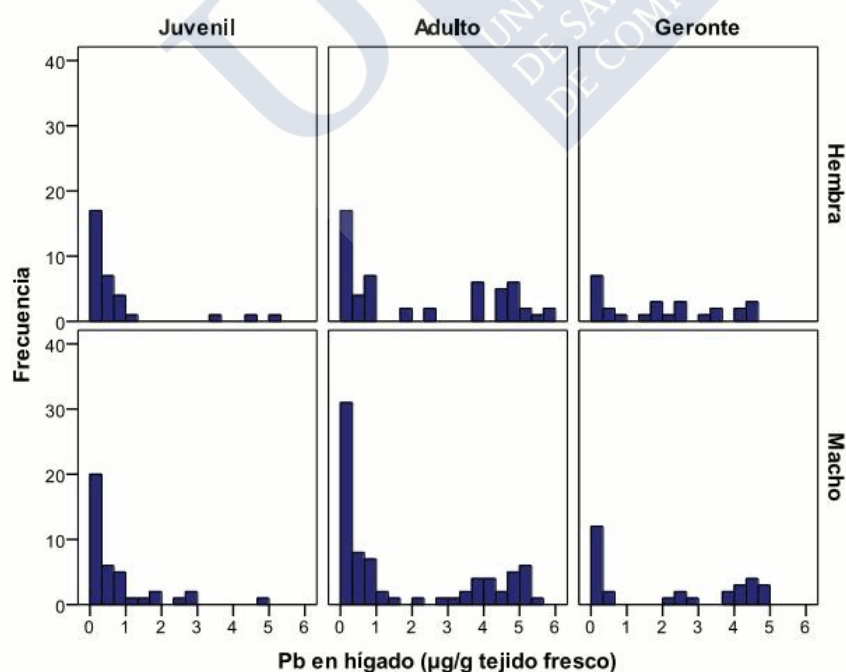
Puede señalarse aquí que la bibliografía consultada en ocasiones argumenta que la mayor acumulación de metales pesados en los ejemplares jóvenes puede estar relacionada con su riesgo de mayor exposición a los mismos, como consecuencia de su etología, al permanecer generalmente en áreas más restringidas, mientras que los adultos suelen vagabundear por un área más amplia (Burger y Gochfeld, 2001). Sin embargo, con las excepciones antes indicadas, los presentes resultados, tal como se puede ver en las tablas anteriores, difieren de esa afirmación y, además, incluso se podría hipotetizar con que los ejemplares adultos -sobre todo aquellos sin territorio establecido- están más expuestos a posibles contaminaciones como consecuencia de su comportamiento vagabundeador y el aprovechamiento de recursos marginales o poco habituales. Otros autores apuntan que las crías pueden acumular y excretar de forma diferente los metales pesados debido a las diferencias en su dieta, su fisiología y su tasa metabólica (Gallego, 2006). Por su parte, la distribución de cada metal por tejidos en los tres grupos de edad responde a las pautas que ya se apuntaron respecto a los valores generales establecidos para el grupo completo de animales estudiados, de la misma forma que ocurría cuando dividíamos en grupo inicial en los dos grupos en razón del género (machos y hembras).

Respecto a los resultados obtenidos para los grupos establecidos considerando de forma conjunta los factores sexo y edad, en el presente apartado, aportaremos tan solo los valores de plomo, cadmio y zinc en los diferentes grupos y las diferencias individuales entre los grupos, considerando en un apartado específico de la presente memoria de tesis doctoral, debido a su importancia y necesaria profundidad del examen de los datos, el análisis estadístico específico, las posibles diferencias entre ellos y su significado (apartado 5.4. Influencia del sexo, la edad y el ámbito geográfico en los niveles de plomo, cadmio y zinc en el zorro).

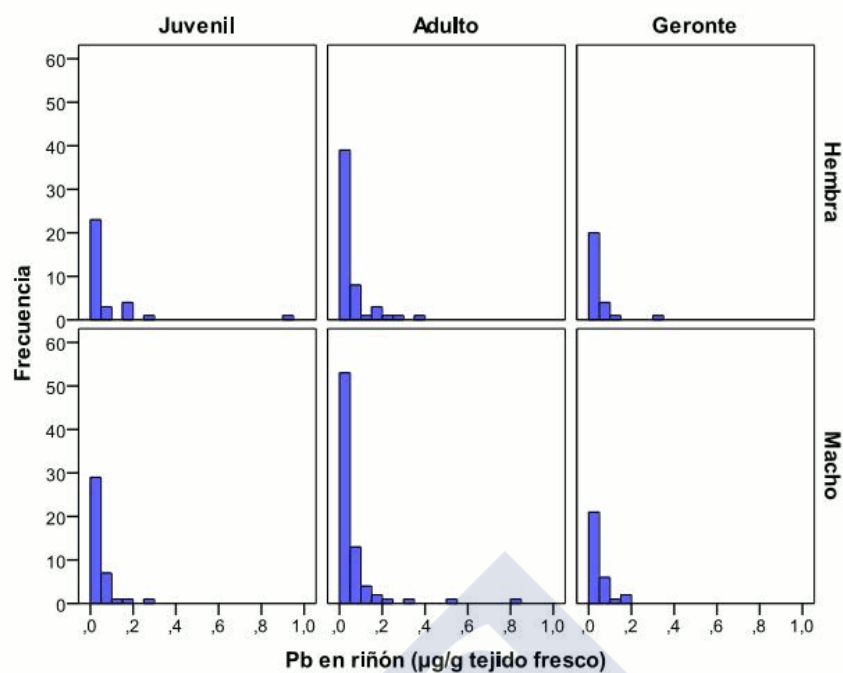
En las tablas 26, 27 y 28 figuran los valores medios y desviación típica de las concentraciones medias para los tres metales, plomo, cadmio y zinc respectivamente en los grupos completo de ejemplares, así como en machos, y hembras según cada uno de los tres grupos etarios establecidos (joven, adulto y geronte). De forma similar, en las Gráficas 11, 12 y 13 se muestran los resultados específicos para el plomo, en las Gráficas 14, 15 y 16 para el cadmio, y en las Gráficas 17, 18 y 19 para el zinc.

		Juvenil		Adulto		Geronte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	0,746	1,137	1,967	2,062	2,075	1,85
	Riñón	0,063	0,119	0,062	0,099	0,049	0,053
	Pelo	0,394	0,315	0,444	0,314	0,411	0,278
<b>Macho</b>	Hígado	0,744	1,031	1,764	2,001	2,174	2,026
	Riñón	0,046	0,052	0,066	0,115	0,053	0,043
	Pelo	0,374	0,34	0,473	0,327	0,381	0,284
<b>Hembra</b>	Hígado	0,748	1,272	2,252	2,132	1,961	1,655
	Riñón	0,083	0,167	0,056	0,071	0,045	0,063
	Pelo	0,418	0,284	0,403	0,294	0,446	0,272

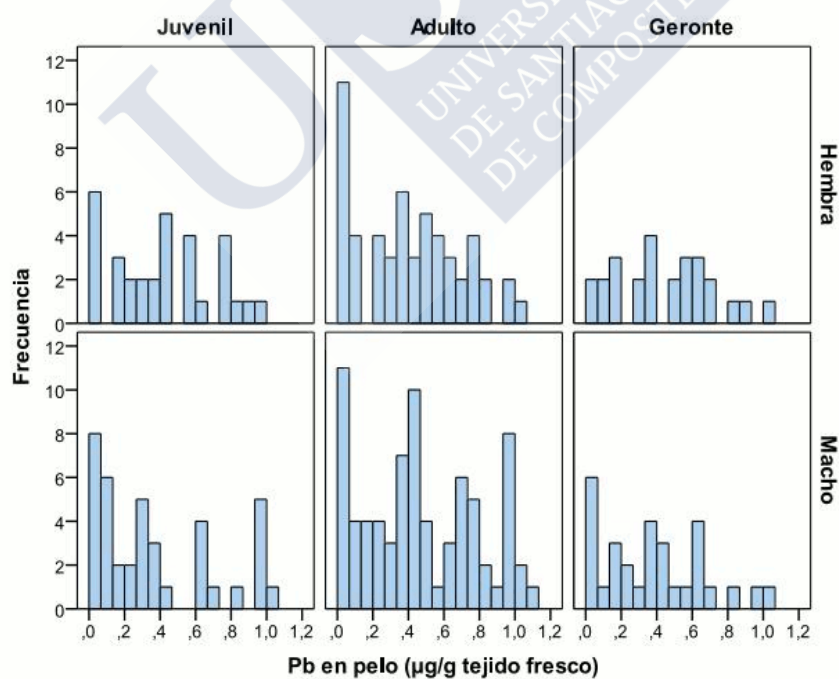
**Tabla 26.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de plomo en las muestras de zorro en función del sexo y la edad.



**Gráfica 11.** Distribución de las concentraciones de plomo ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y sexo) considerados.



**Gráfica 12.** Distribución de las concentraciones de plomo ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y sexo) considerados

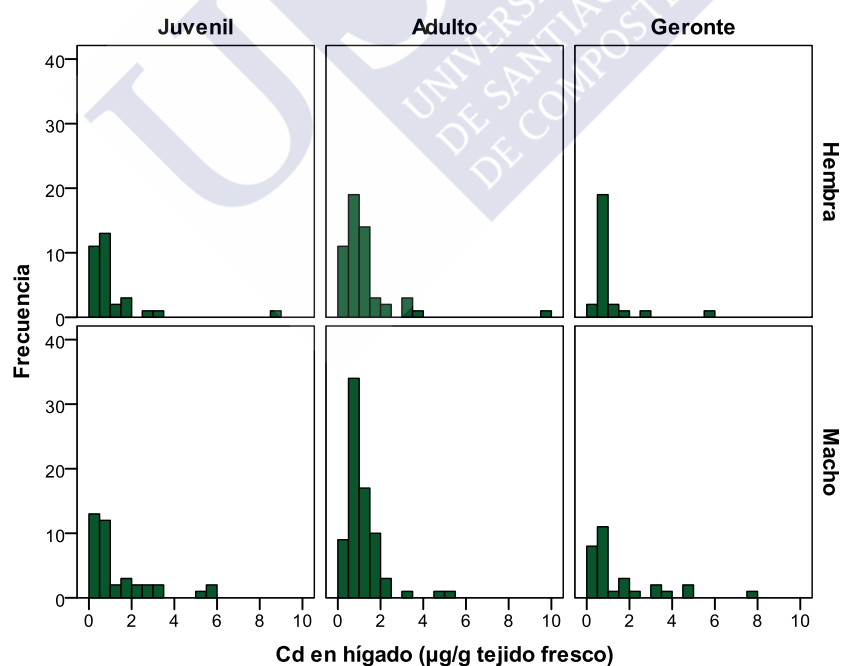


**Gráfica 13.** Distribución de las concentraciones de plomo ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y sexo) considerados.



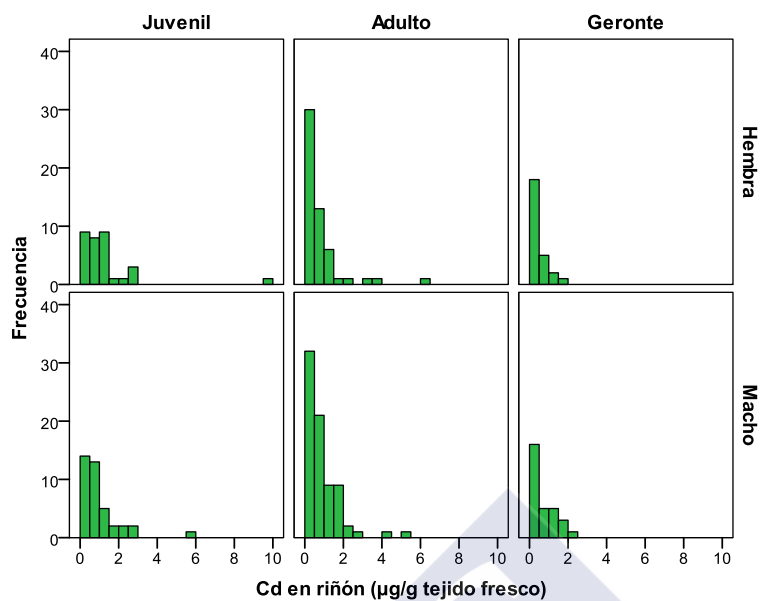
		Juvenil		Adulto		Geronte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	1,217	1,561	1,165	1,122	1,290	1,508
	Riñón	1,135	1,370	0,855	0,928	0,588	0,512
	Pelo	0,004	0,022	0,002	0,012	0,005	0,027
<b>Macho</b>	Hígado	1,350	1,542	1,119	0,837	1,479	1,807
	Riñón	0,967	1,038	0,893	0,864	0,672	0,584
	Pelo	0,007	0,030	0,002	0,011	N.D.	N.D.
<b>Hembra</b>	Hígado	1,054	1,593	1,230	1,437	1,072	1,060
	Riñón	1,339	1,684	0,803	1,016	0,492	0,405
	Pelo	N.D.	N.D.	0,002	0,013	0,107	0,039

**Tabla 27.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de cadmio en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y de la edad.

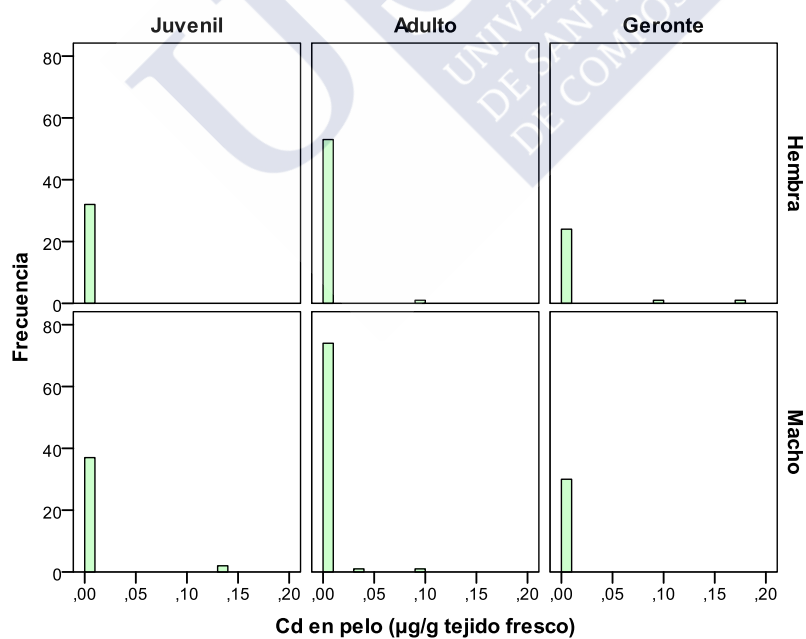


**Gráfica 14.** Distribución de las concentraciones de cadmio ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y sexo) considerados.





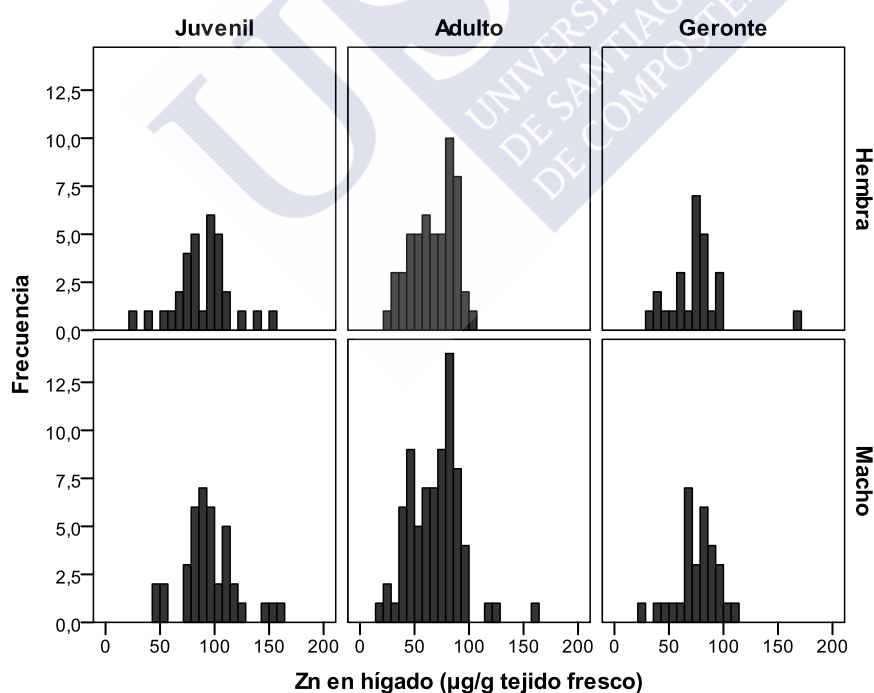
**Gráfica 15.** Distribución de las concentraciones de cadmio ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y sexo) considerados.



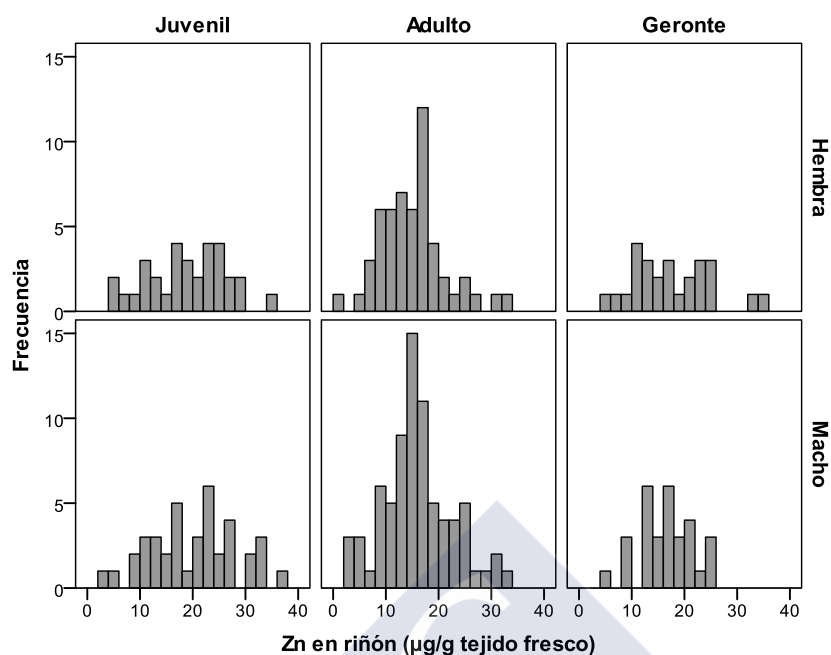
**Gráfica 16.** Distribución de las concentraciones de cadmio ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y sexo) considerados.

		Juvenil		Adulto		Geronte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	92,35	25,86	68,44	22,32	75,29	21,90
	Riñón	19,80	7,79	15,66	6,44	17	6,28
	Pelo	145	26,35	154,5	27,64	138,20	22,13
<b>Macho</b>	Hígado	94,97	25,61	69,15	24,02	75,86	18,37
	Riñón	20,48	8,05	16,07	6,63	16,42	5,002
	Pelo	145,40	26,18	155,4	26,68	135,60	25,36
<b>Hembra</b>	Hígado	89,16	26,21	67,43	19,84	74,63	25,75
	Riñón	18,98	7,515	15,09	6,17	17,67	7,539
	Pelo	144,60	26,98	153,10	29,12	141,20	17,69

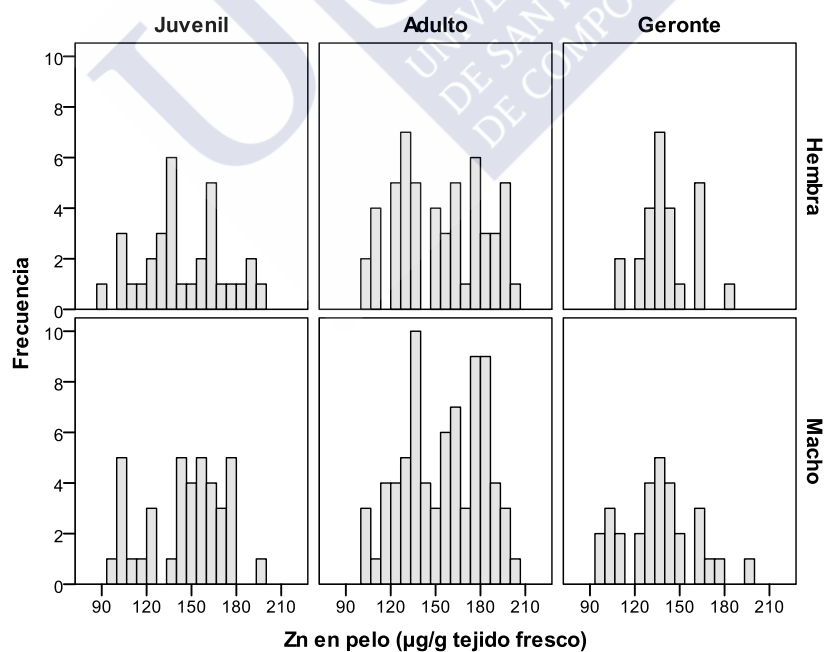
**Tabla 28.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de zinc en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y de la edad.



**Gráfica 17.** Distribución de las concentraciones de zinc (µg/g de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y sexo).



**Gráfica 18.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y sexo).



**Gráfica 19.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y sexo).

### 5.2.2. FACTORES DE VARIACIÓN EXÓGENOS: EL HÁBITAT

Como ya se ha comentado, el zorro habita todo tipo de ambientes pero muestra especial predilección por zonas heterogéneas, de tal forma que aprovecha la proximidad de asentamientos humanos para alimentarse. Este contacto con las poblaciones humanas y sus hábitos tróficos, entre otros factores, lo sitúan de partida como un bioindicador idóneo. Por ello, ver el comportamiento que presentan las concentraciones de los metales pesados según el hábitat en el que viven los animales muestreados cobra especial relevancia para la biomonitorización. Como mamífero debería reflejar fielmente la contaminación presente en su hábitat (en la comida, agua, suelo, aire...) (Hermoso de Mendoza et al., 2008; De la Casa, 2010).

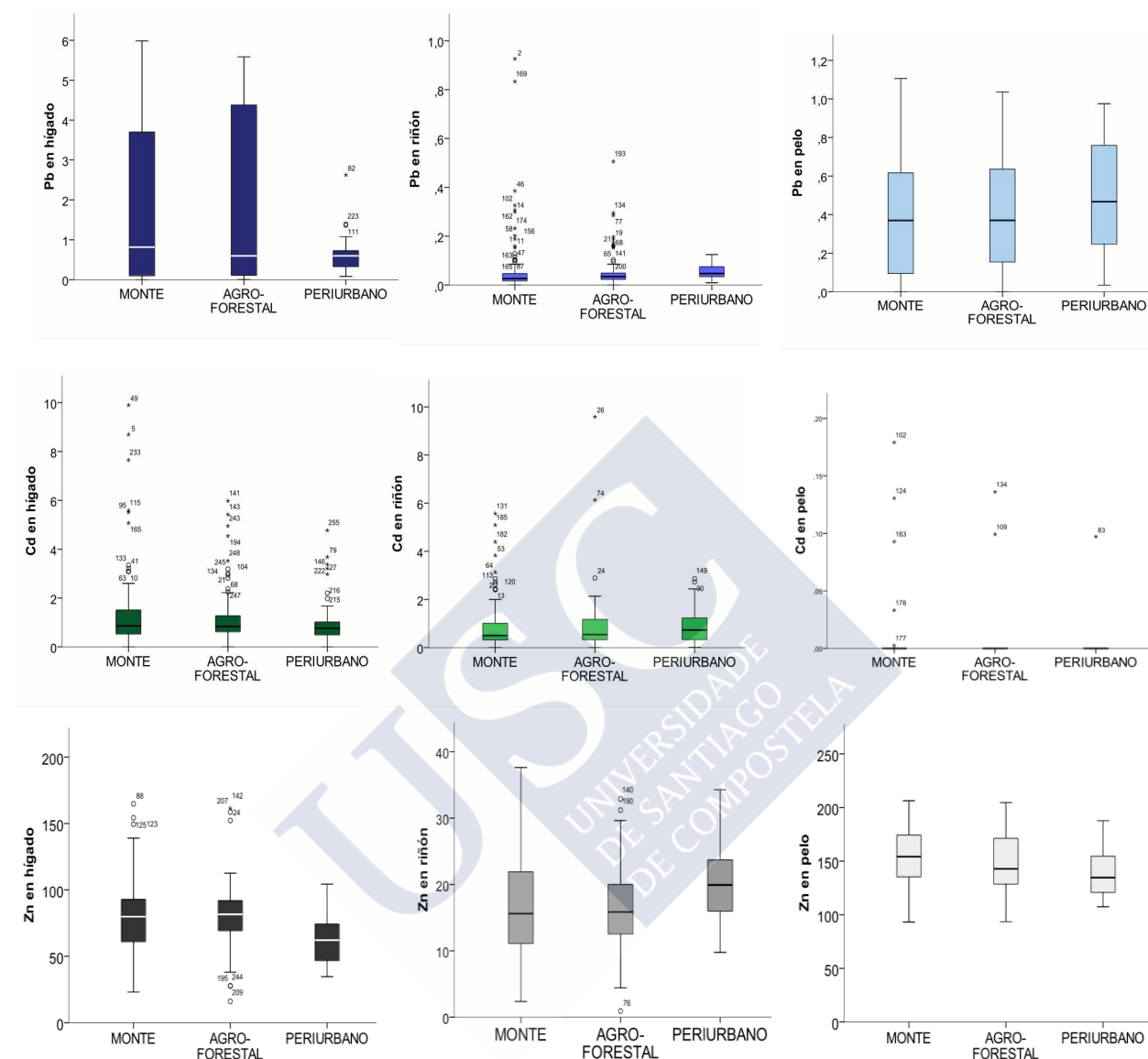
Es sabido que en Galicia el zorro presenta densidades más elevadas en las zonas periurbanas e inferior en las de monte (Tapia y Domínguez, 2003); sin embargo, dadas las características del muestreo en el presente estudio no fue posible contar con una distribución proporcional a esta realidad. No obstante, y hecha esta salvedad, el número de muestras conseguidas por cada hábitat considerado sí permite llegar a conclusiones al respecto y observar el comportamiento de los metales pesados según se trate de un entorno periurbano, agroforestal o de monte y, en definitiva, según su proximidad a asentamientos humanos. Con estas consideraciones, los resultados relativos al contenido de metales pesados en función del hábitat donde tuvo lugar el muestreo, son los que se presentan en la Tabla 29 y en la Gráfica 20.

En términos generales, el entorno agroforestal ha sido aquel en el que mayores acumulaciones de metales pesados se han encontrado (mayores concentraciones de plomo en hígado, plomo en riñón, cadmio en riñón y zinc en hígado); seguido del hábitat de monte (mayor concentración de cadmio en hígado, cadmio en pelo y zinc en pelo); y, finalmente, el periurbano (mayor concentración de plomo en pelo y zinc en riñón). Por su lado, el ámbito periurbano es, en general, en el que los valores medios son más homogéneos, con menores desviaciones respecto a las concentraciones medias, y donde estos promedios de concentración de los metales son menores.

Estos resultados deben ser interpretados teniendo presente que, en un análisis de la varianza, para establecer la presencia de diferencias entre grupos para algunos parámetros en primer lugar debe comprobarse que no existe igualdad de medias, que las observaciones son normales e independientes. Para esto se ha aplicado la *prueba de Levene de homogeneidad de la varianza* y *pruebas robustas de igualdad de las medias de Welch* para los diferentes parámetros estudiados; observando en la Tabla 30 que existen diferencias entre los grupos para las concentraciones de plomo en hígado y de zinc en los tres tejidos analizados.

			Nº	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	Desv. típica
<b>Periurbano</b>	Hígado	Pb	44	0,082	2,625	0,599	0,604	0,442
		Cd		N.D.	4,769	0,755	1,054	1,057
		Zn		34,68	104,3	62,14	63,17	17,91
	Riñón	Pb		0,009	0,125	0,047	0,054	0,029
		Cd		0,012	2,862	0,732	0,872	0,692
		Zn		9,76	34,27	19,92	20,17	5,764
	Pelo	Pb		0,04	0,98	0,47	0,49	0,290
		Cd		N.D.	0,097	N.D.	0,002	0,015
		Zn		107,5	187,7	134,6	138,1	20,71
<b>Agroforestal</b>	Hígado	Pb	80	0,002	5,586	0,598	1,976	2,117
		Cd		N.D.	5,974	0,832	1,191	1,187
		Zn		16,06	161,4	81,60	80,32	24,64
	Riñón	Pb		N.D.	0,506	0,035	0,062	0,078
		Cd		0,002	9,586	0,541	0,930	1,285
		Zn		0,924	32,89	15,85	16,34	6,543
	Pelo	Pb		N.D.	1,036	0,370	0,418	0,311
		Cd		N.D.	0,136	N.D.	0,003	0,019
		Zn		93,50	204,6	142,8	147,9	28,62
<b>Monte</b>	Hígado	Pb	133	N.D.	5,984	0,816	1,806	1,919
		Cd		N.D.	9,900	0,857	1,266	1,502
		Zn		23,06	164,8	79,86	78,68	26,46
	Riñón	Pb		N.D.	0,926	0,026	0,060	0,120
		Cd		0,002	5,564	0,505	0,842	0,932
		Zn		2,365	37,63	15,61	16,54	7,405
	Pelo	Pb		N.D.	1,105	0,370	0,404	0,308
		Cd		N.D.	0,179	N.D.	0,003	0,021
		Zn		93,22	206,3	154,1	151,9	26,97

**Tabla 29.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de plomo, cadmio y zinc en muestras de hígado, riñón y pelo en las muestras de zorro en función del hábitat.



**Gráfica 20.** Representación de cajas de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc ( $\mu\text{g}$  de tejido fresco) en los subgrupos establecidos por el hábitat de procedencia (monte, agroforestal y periurbano). Las cajas indican los percentiles al 10,25,50 (mediana),75 y 90%, los valores extremos (\*) y los valores atípicos (°).

	Prueba de homogeneidad de varianzas				Pruebas robustas de igualdad de las medias			
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.	Estadístico de Welch <sup>a</sup>	gl1	gl2	Sig.
<b>Pb en hígado</b>	88,274	2	254	0	34,475	2	150,643	0
<b>Pb en riñón</b>	2,513	2	254	0,083	0,391	2	161,62	0,677
<b>Pb en pelo</b>	0,028	2	254	0,972	1,409	2	114,586	0,249
<b>Cd en hígado</b>	0,53	2	254	0,589	0,527	2	127,293	0,592
<b>Cd en riñón</b>	0,514	2	254	0,599	0,144	2	123,904	0,866
<b>Cd en pelo</b>	0,205	2	254	0,815	0,073	2	128,238	0,93
<b>Zn en hígado</b>	2,076	2	254	0,128	12,628	2	130,317	0
<b>Zn en riñón</b>	2,03	2	254	0,133	6,989	2	123,059	0,001
<b>Zn en pelo</b>	3,245	2	254	0,041	6,261	2	123,674	0,003

a. Distribuidos en F asintóticamente.

**Tabla 30.** Prueba de Levene de homogeneidad de varianzas y pruebas robustas de igualdad de las medias de Welch para los parámetros estudiados en los subgrupos establecidos según el hábitat de procedencia (monte, agroforestal y periurbano).

Es bien conocido que en la agricultura y ganadería se liberan metales pesados procedentes de tratamientos agrícolas, aditivos de la alimentación animal o fertilizantes, entre otras fuentes. La estructura de asentamiento de la población gallega, caracterizada por la importancia del sector agroganadero, la proximidad de éste a los núcleos de población y la existencia de un bajo grado de urbanización, hacen que lo que ocurra en este tipo de hábitat sea de especial relevancia para el presente estudio. Este hecho hace pensar que la mayor acumulación de metales pesados en los zorros no aparece directamente relacionada con la proximidad a zonas de mayor densidad de población humana y sus actividades domésticas habituales de subsistencia, sino más bien, con los aprovechamientos del suelo, la presencia de industria o de vertederos incontrolados. Esta hipótesis contrastaría con los resultados obtenidos por Dip et al. (2001) -aunque no serían estrictamente comparables dadas las diferencias entre los contextos territoriales de ambos estudios-, que encontraron que los zorros de las zonas urbanas eran los que presentaban mayores niveles de plomo en riñón e hígado (aunque el cadmio era mayor en zonas suburbanas).

Pasando a un análisis más detallado de los datos obtenidos, el plomo presenta sus mayores promedios en el ámbito agroforestal ( $1,976 \pm 2,117$  mg/kg en hígado y  $0,062 \pm 0,078$  mg/kg en riñón). El hábitat de monte se sitúa entre los otros dos grupos en cuanto a niveles de plomo, detectándose  $1,806 \pm 1,919$  mg/kg en hígado,  $0,060 \pm 0,120$  mg/kg en riñón y  $0,404 \pm 0,308$  mg/kg en pelo. Donde menores acumulaciones de plomo se producen es en el entorno periurbano con  $0,604 \pm 0,442$  mg/kg en hígado,  $0,054 \pm 0,029$  en riñón; aunque sorprendentemente son estos ejemplares los que poseen mayores cantidades de plomo en el pelo, seguramente reflejando una contaminación eminentemente

aérea, más que alimentaria. Además, tal como se puede comprobar en la Tabla 31 sólo existen diferencias entre los grupos de hábitat para las concentraciones de Pb en hígado y las diferencias son entre el grupo periurbano y los otros dos, pero no entre los de monte y agroforestal.

Comparaciones múltiples Scheffé					
Variable dependiente	(I) Ámbito	(J) Ámbito	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
<b>Pb en hígado</b>	Monte	Agro-Forestal	-0,169312	0,2586301	0,807
		Periurbano	1,2023249*	0,317903	0,001
	Agro-Forestal	Monte	0,169312	0,2586301	0,807
		Periurbano	1,3716369*	0,3430833	0,000
	Periurbano	Monte	-1,2023249*	0,317903	0,001
		Agro-Forestal	-1,3716369*	0,3430833	0,000
<b>Zn en hígado</b>	Monte	Agro-Forestal	-1,6490103	3,4860761	0,894
		Periurbano	15,5024328*	4,285015	0,002
	Agro-Forestal	Monte	1,6490103	3,4860761	0,894
		Periurbano	17,1514432*	4,6244212	0,001
	Periurbano	Monte	-15,5024328*	4,285015	0,002
		Agro-Forestal	-17,1514432*	4,6244212	0,001
<b>Zn en riñón</b>	Monte	Agro-Forestal	0,1939558	0,9744973	0,98
		Periurbano	-3,6365229*	1,1978326	0,011
	Agro-Forestal	Monte	-0,1939558	0,9744973	0,98
		Periurbano	-3,8304787*	1,2927102	0,013
	Periurbano	Monte	3,6365229*	1,1978326	0,011
		Agro-Forestal	3,8304787*	1,2927102	0,013
<b>Zn en pelo</b>	Monte	Agro-Forestal	4,0063108	3,757755	0,567
		Periurbano	13,8029937*	4,6189573	0,012
	Agro-Forestal	Monte	-4,0063108	3,757755	0,567
		Periurbano	9,7966828	4,9848143	0,147
	Periurbano	Monte	-13,8029937*	4,6189573	0,012
		Agro-Forestal	-9,7966828	4,9848143	0,147

**Tabla 31.** Comparaciones múltiples por el método Scheffé entre los distintos hábitats para las concentraciones de Pb, Cd y Zinc en los tejidos estudiados. En esta tabla, para hacer más fácil su comprensión, se han eliminado los datos relativos a los parámetros en los que no existían diferencias entre ningún grupo (tabla 30).



Las concentraciones más elevadas de cadmio se detectaron en el hígado de los zorros que vivían en el monte ( $1,266 \pm 1,502$  mg/kg) y las menores en el pelo de los de ámbito periurbano ( $0,002 \pm 0,015$  mg/kg). En general, es en el entorno periurbano dónde menos se acumula en los órganos ( $1,055 \pm 1,057$  en hígado y  $0,872 \pm 0,692$  en riñón). En el agroforestal encontramos comparativamente los valores intermedios de acumulación en hígado ( $1,191 \pm 1,187$  mg/kg) y pelo ( $0,003 \pm 0,019$  mg/kg) y los mayores en riñón ( $0,930 \pm 1,285$  mg/kg). Finalmente, en el monte se detectaron los mayores promedios en hígado y pelo; éstos últimos muy similares a los demás grupos ( $0,003 \pm 0,021$  mg/kg); y los menores en riñón ( $0,842 \pm 0,932$  mg/kg). Sin embargo, y a pesar de todo lo anterior debemos tener presente que no existen diferencias estadísticas entre los grupos por las concentraciones de cadmio en hígado, riñón o pelo, tal como se ha mostrado con anterioridad.

El zinc es, de nuevo, el metal pesado que muestra mayores diferencias entre los grupos formados, en este caso de hábitat. De esta forma, el zinc en hígado se acumula más en los individuos de zonas agroforestales ( $80,32 \pm 24,64$  mg/kg), luego en los de monte ( $78,68 \pm 26,46$  mg/kg) y, en tercer lugar, en los que viven en zonas periurbanas ( $63,17 \pm 17,91$  mg/kg); existiendo diferencias estadísticas entre el grupo periurbano y los otros dos grupos. En el riñón, por el contrario, las menores concentraciones aparecen en el grupo agroforestal ( $16,34 \pm 6,543$  mg/kg), con valores medios muy similares a los de monte, mientras en el entorno periurbano es donde se detectaron las mayores concentraciones ( $20,17 \pm 5,764$  mg/kg) observándose también en este caso diferencias entre el grupo periurbano y los otros dos. Por su parte, el zinc presenta los promedios más altos de este metal en el pelo de los ejemplares de monte ( $151,9 \pm 26,97$  mg/kg), seguidos de los agroforestales ( $147,9 \pm 28,62$  mg/kg) y, con menores concentraciones los periurbanos ( $138,1 \pm 20,71$  mg/kg), observándose diferencias sólo entre los grupos periurbano y de monte.

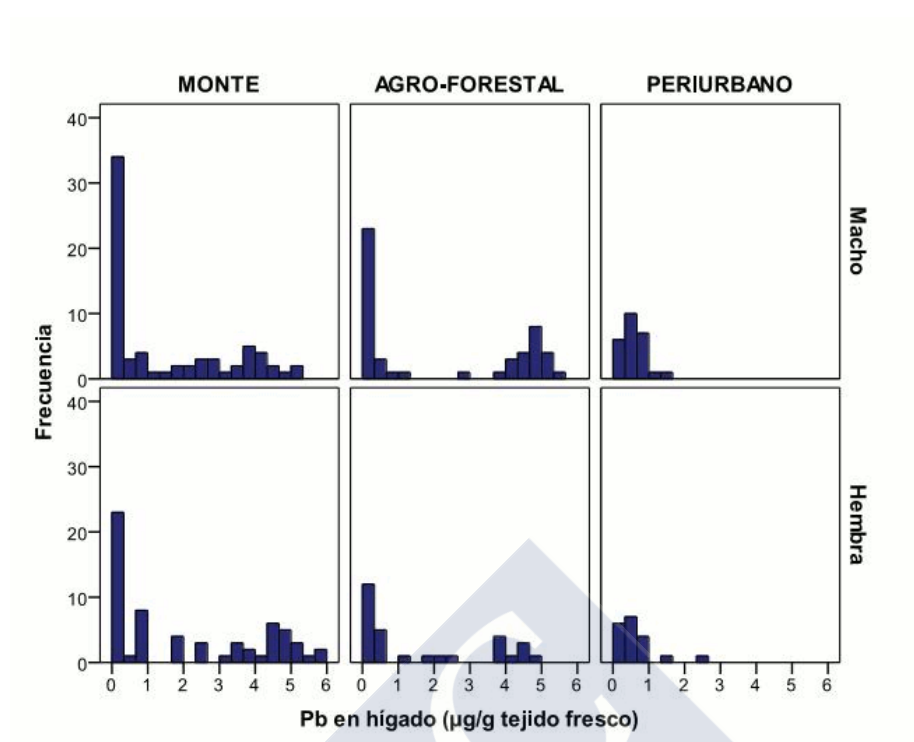
Si se cruza el factor entorno con la variable del género (Tablas 32 a 34), observamos de nuevo que, *grosso modo*, existe una acumulación de metales pesados ligeramente superior en los machos que en las hembras. Sin embargo, las hembras de zonas de monte acumulan aparentemente más plomo en la mayoría de tejidos; las de zonas agroforestales más cadmio; y las de zonas periurbanas más zinc. No existe, por tanto, una pauta excesivamente clara de acumulación de metales pesados por hábitat al compararla entre sexos. No se puede decir que cuanto más urbano sea el entorno se producen mayores acumulaciones. Esto es ocurre con mayor frecuencia en el caso de las hembras (con el plomo en hígado y el cadmio en hígado) que en los machos (sólo ocurre con el zinc en riñón); la situación contraria (mayores concentraciones cuanto más lejos de poblaciones humanas) se detectó en más ocasiones en los machos (Pb en todos los tejidos y Zn en hígado y pelo).

Considerando conjuntamente el hábitat con el sexo (Tablas 32, 33 y 34, así como Gráficas 28, 29 y 30 para el plomo, Gráficas 31, 32 y 33 para el cadmio, y Gráficas 34, 35 y 36 para el zinc), observamos que los ejemplares juveniles que viven en entornos periurbanos se distinguen por ser los que acumulan menores cantidades de plomo y mayores concentraciones de zinc. Respecto al plomo, además, los juveniles presentan mayores valores medios conforme habitan más lejos de las áreas

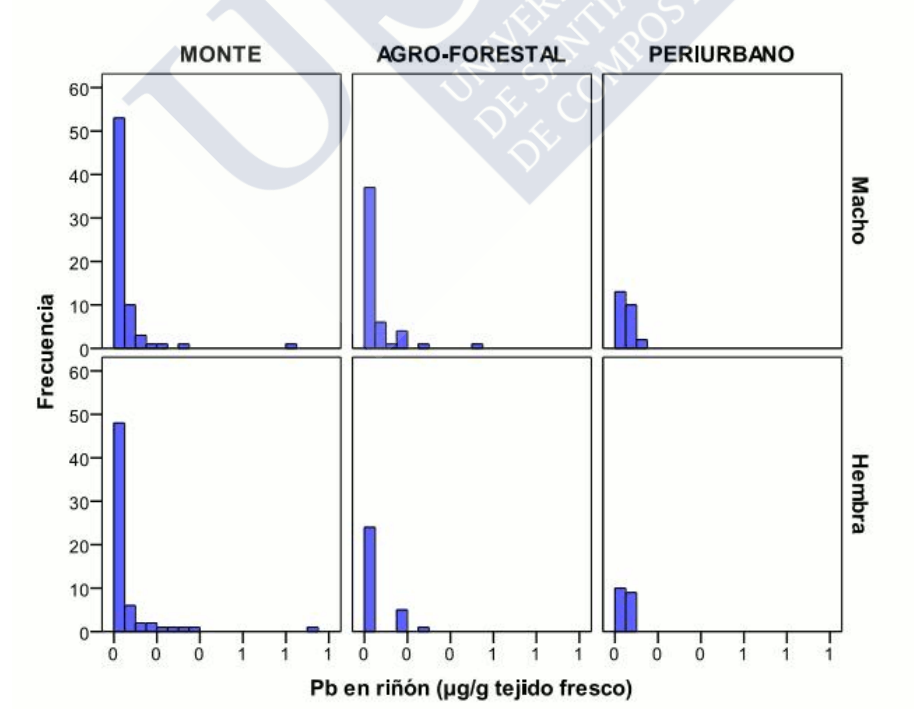
periurbanas. El cadmio, por su parte, se comporta de modo ligeramente diferente. El grupo más homogéneo es el de ejemplares jóvenes en zonas agroforestales, que son los que presentan valores más altos de este metal mientras que los jóvenes periurbanos poseen los valores medios más bajos. Este aspecto sí concuerda con las conclusiones de Dip et al. (2001) que encontraron que los niveles de cadmio eran más elevados en zonas suburbanas que urbanas. Finalmente, respecto al zinc, también se observa que el grupo de jóvenes en zonas periurbanas es el que presenta menor variabilidad interna y las mayores concentraciones en todos los hábitats. En los gerontes se encuentra la tendencia contraria (en hígado y pelo) ya que es en las zonas periurbanas dónde presentan menores concentraciones y en las de monte dónde son mayores.

		Periurbano		Agro-forestal		Monte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	0,604	0,442	1,976	2,117	1,806	1,919
	Riñón	0,054	0,029	0,062	0,078	0,06	0,12
	Pelo	0,49	0,29	0,418	0,311	0,404	0,308
<b>Macho</b>	Hígado	0,562	0,314	2,164	2,261	1,515	1,719
	Riñón	0,056	0,03	0,062	0,084	0,055	0,107
	Pelo	0,533	0,318	0,431	0,34	0,387	0,309
<b>Hembra</b>	Hígado	0,659	0,574	1,661	1,845	2,129	2,086
	Riñón	0,051	0,028	0,06	0,068	0,064	0,133
	Pelo	0,433	0,246	0,396	0,257	0,423	0,309

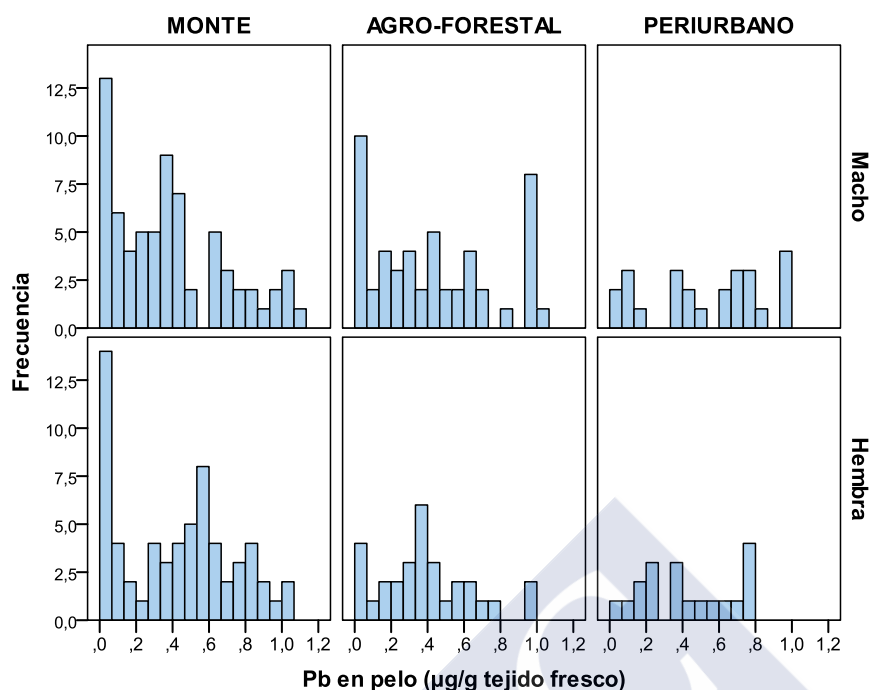
**Tabla 32.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de plomo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y del hábitat.



**Gráfica 21.** Distribución de las concentraciones de plomo (µg/g de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados.



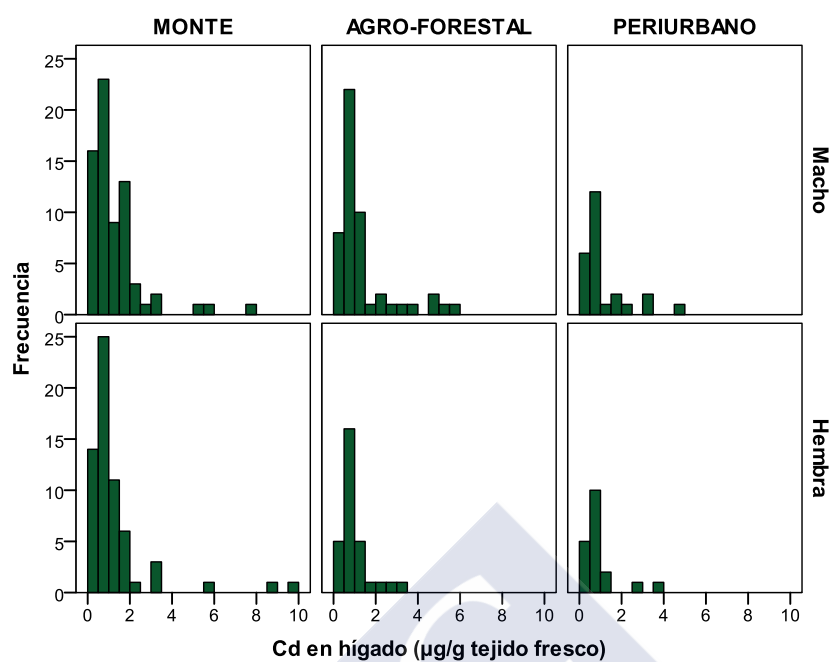
**Gráfica 22.** Distribución de las concentraciones de plomo (µg/g de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados.



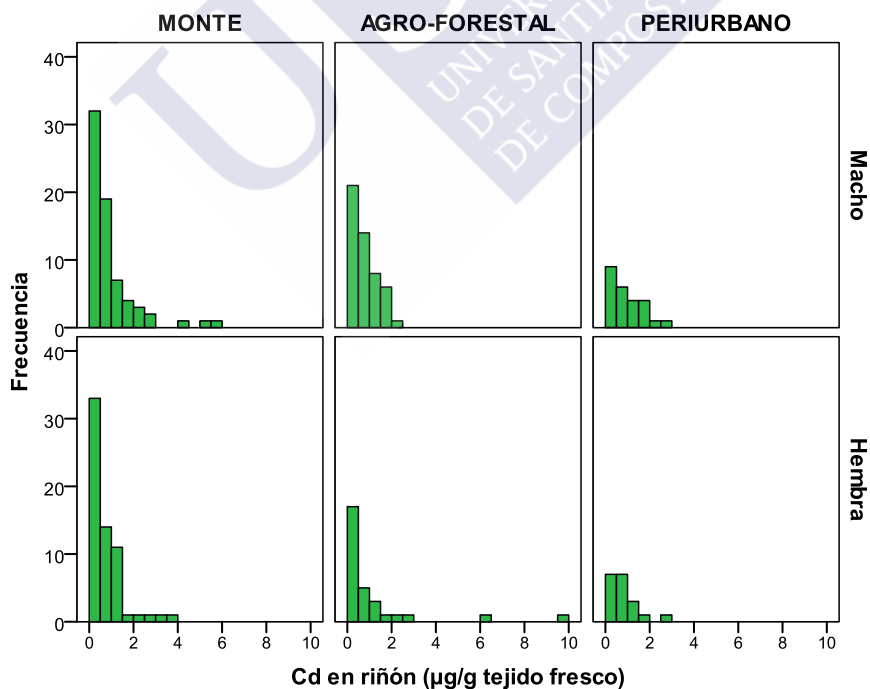
**Gráfica 23.** Distribución de las concentraciones de plomo ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (sexo y hábitat).

		Periurbano		Agro-forestal		Monte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	1,054	0,755	1,191	1,285	1,266	1,502
	Riñón	0,872	0,732	0,930	0,019	0,842	0,932
	Pelo	0,002	N.D.	0,003	24,640	0,003	0,021
<b>Macho</b>	Hígado	1,161	1,155	1,325	1,382	1,239	1,290
	Riñón	0,929	0,725	0,789	0,541	0,900	1,084
	Pelo	N.D.	N.D.	0,003	0,019	0,004	0,019
<b>Hembra</b>	Hígado	0,915	0,926	0,967	0,729	1,296	1,717
	Riñón	0,797	0,658	1,164	1,979	0,776	0,732
	Pelo	0,005	0,022	0,003	0,018	0,003	0,023

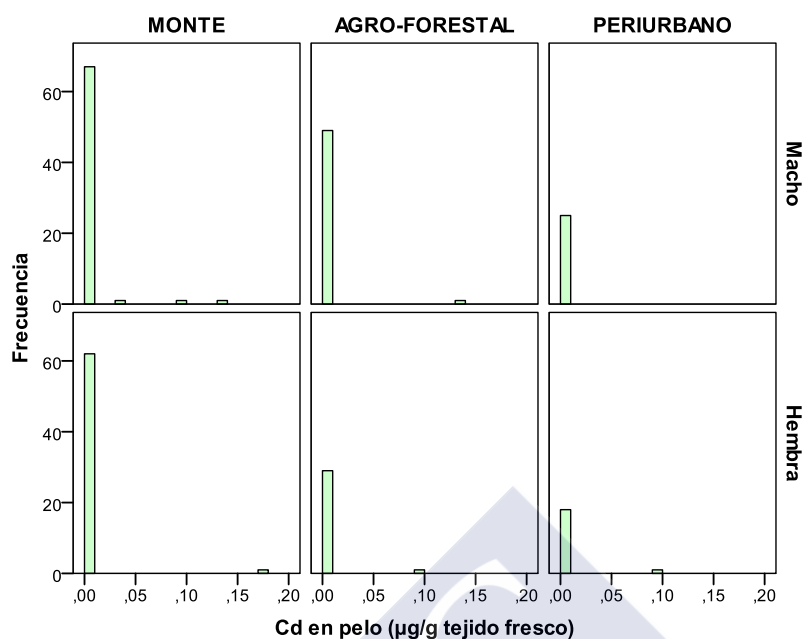
**Tabla 33.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de cadmio en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y del hábitat.



**Gráfica 24.** Distribución de las concentraciones de cadmio ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados.



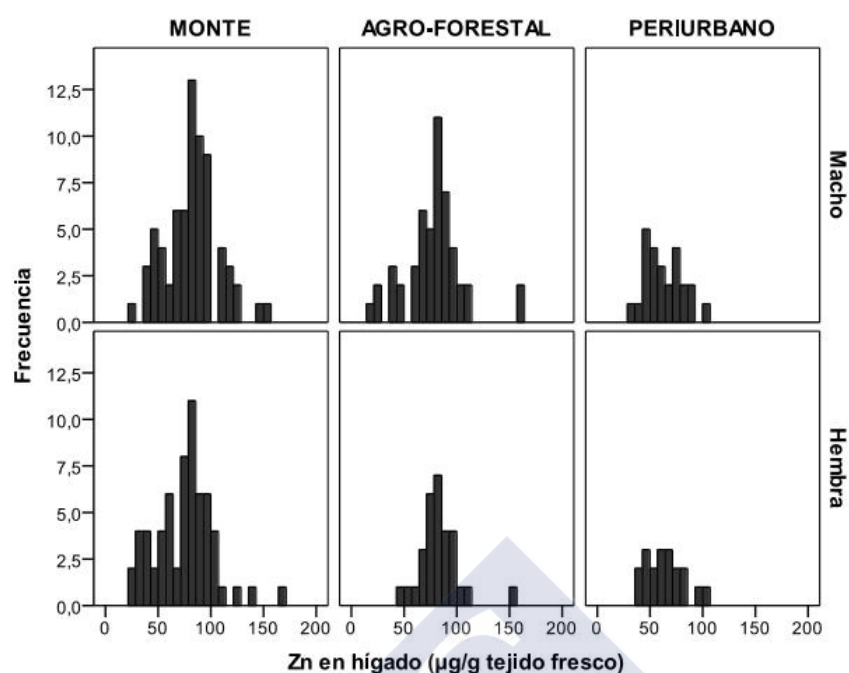
**Gráfica 25.** Distribución de las concentraciones de cadmio ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (sexo y hábitat).



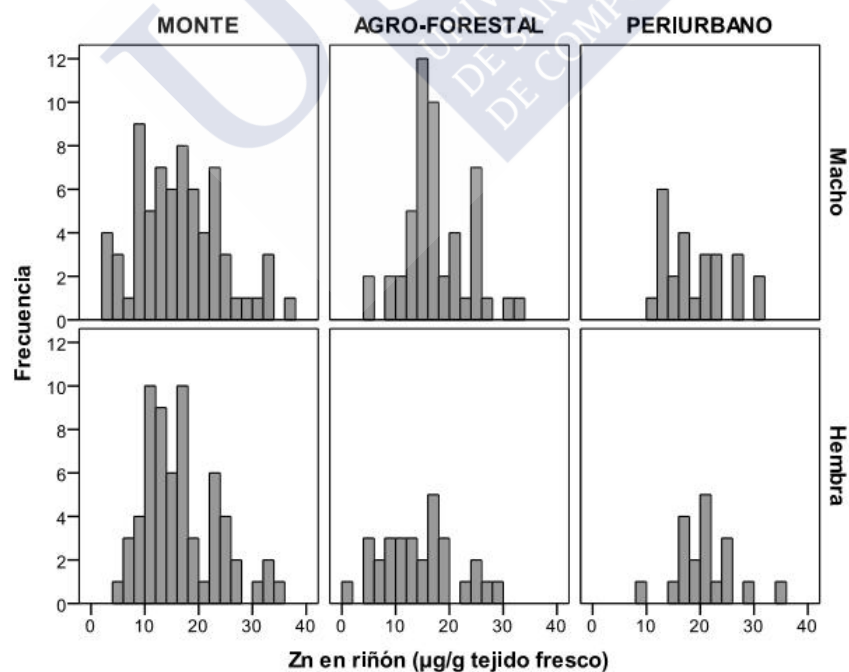
**Gráfica 26.** Distribución de las concentraciones de cadmio (µg/g de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (sexo y hábitat).

		Periurbano		Agro-forestal		Monte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
Todos	Hígado	1,054	0,755	1,191	1,285	1,266	1,502
	Riñón	0,872	0,732	0,93	0,019	0,842	0,932
	Pelo	0,002	N.D.	0,003	24,64	0,003	0,021
Macho	Hígado	1,161	1,155	1,325	1,382	1,239	1,29
	Riñón	0,929	0,725	0,789	0,541	0,9	1,084
	Pelo	N.D.	N.D.	0,003	0,019	0,004	0,019
Hembra	Hígado	0,915	0,926	0,967	0,729	1,296	1,717
	Riñón	0,797	0,658	1,164	1,979	0,776	0,732
	Pelo	0,005	0,022	0,003	0,018	0,003	0,023

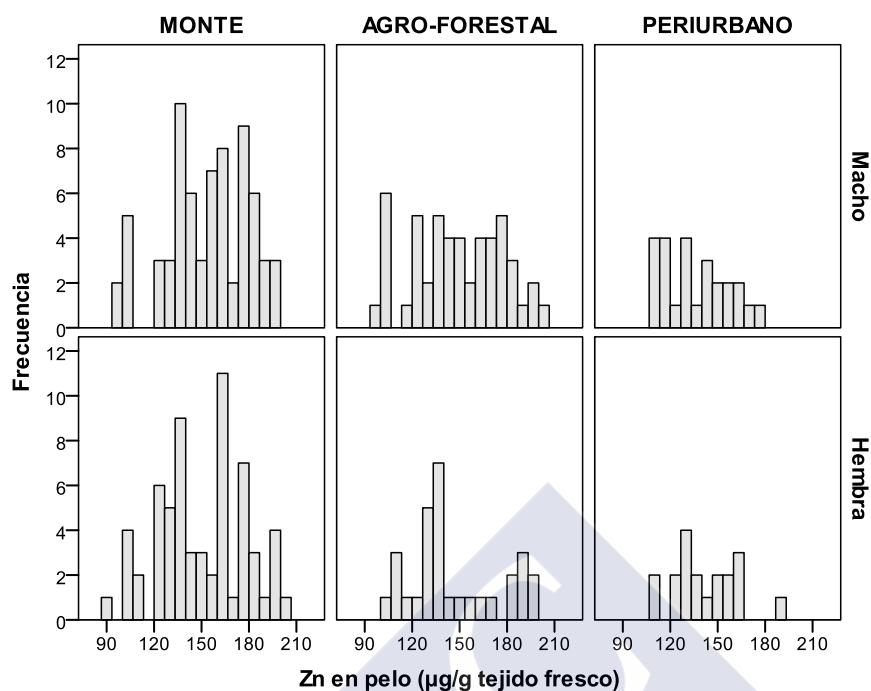
**Tabla 34.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de cadmio en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función de sexo y hábitat.



**Gráfica 27.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (sexo y hábitat).



**Gráfica 28.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (sexo y hábitat).



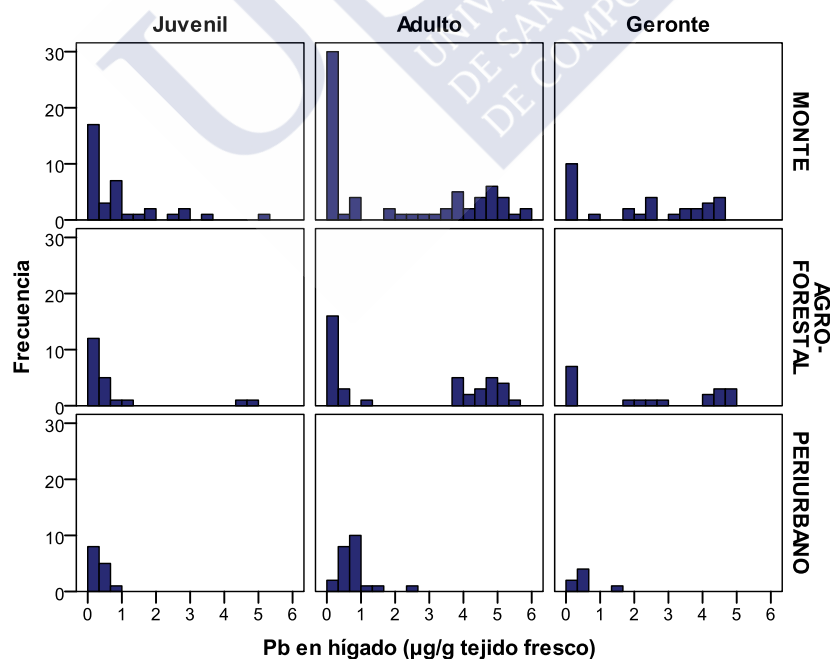
**Gráfica 29.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados.

De forma similar a lo antes indicado, y considerando conjuntamente el hábitat con la edad (Tablas 35, 36 y 37, así como Gráficas 30, 31 y 32 para el plomo, Gráficas 32, 34 y 35 para el cadmio, y Gráficas 36, 37 y 38 para el zinc), observamos que en general los ejemplares juveniles que viven en entornos periurbanos se distinguen por ser los que acumulan menores cantidades de plomo y mayores concentraciones de zinc. Respecto al plomo, además, los juveniles presentan mayores valores medios conforme habitan más lejos de las áreas periurbanas. El cadmio, por su parte, se comporta de modo ligeramente diferente. El grupo más homogéneo es el de ejemplares jóvenes en zonas agroforestales, que son los que presentan valores más altos de este metal mientras que los jóvenes periurbanos poseen los valores medios más bajos. Este aspecto sí concuerda con las conclusiones de Dip et al. (2001) que encontraron que los niveles de cadmio eran más elevados en zonas suburbanas que urbanas. Finalmente, respecto al zinc, también se observa que el grupo de jóvenes en zonas periurbanas es el que presenta menor variabilidad interna y las mayores concentraciones en todos los hábitats. En los gerontes se encuentra la tendencia contraria (en hígado y pelo) ya que es en las zonas periurbanas dónde presentan menores concentraciones y en las de monte donde son mayores.

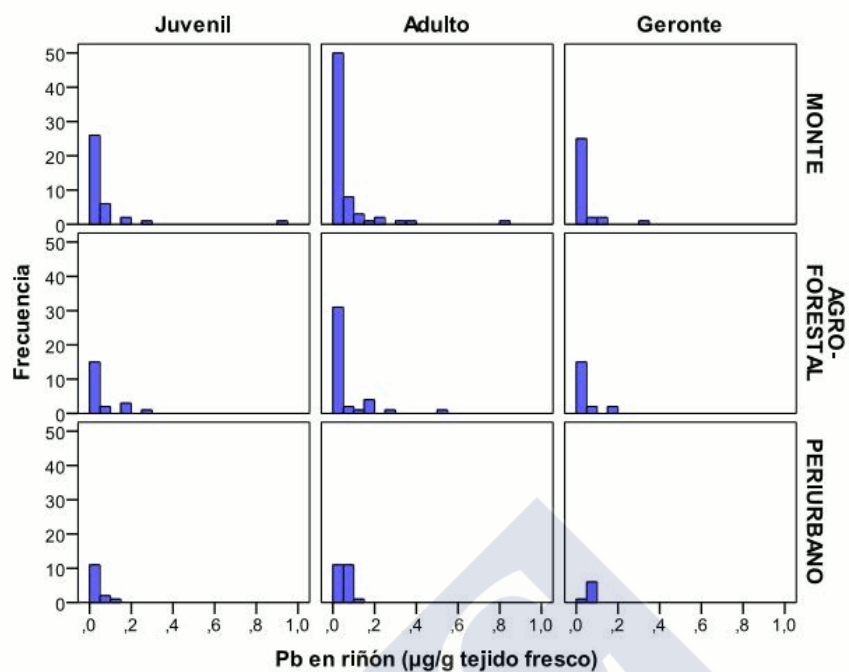


		Periurbano		Agro-forestal		Monte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	0,604	0,442	1,976	2,117	1,806	1,919
	Riñón	0,054	0,029	0,062	0,078	0,06	0,12
	Pelo	0,49	0,29	0,418	0,311	0,404	0,308
<b>Juvenil</b>	Hígado	0,351	0,211	0,719	1,375	0,915	1,182
	Riñón	0,04	0,03	0,064	0,075	0,071	0,157
	Pelo	0,332	0,271	0,408	0,353	0,409	0,313
<b>Adulto</b>	Hígado	0,79	0,479	2,418	2,248	2,101	2,151
	Riñón	0,056	0,028	0,065	0,091	0,062	0,118
	Pelo	0,613	0,274	0,407	0,314	0,408	0,312
<b>Geronte</b>	Hígado	0,499	0,412	2,432	2,03	2,217	1,787
	Riñón	0,074	0,017	0,052	0,048	0,042	0,06
	Pelo	0,399	0,208	0,45	0,263	0,39	0,305

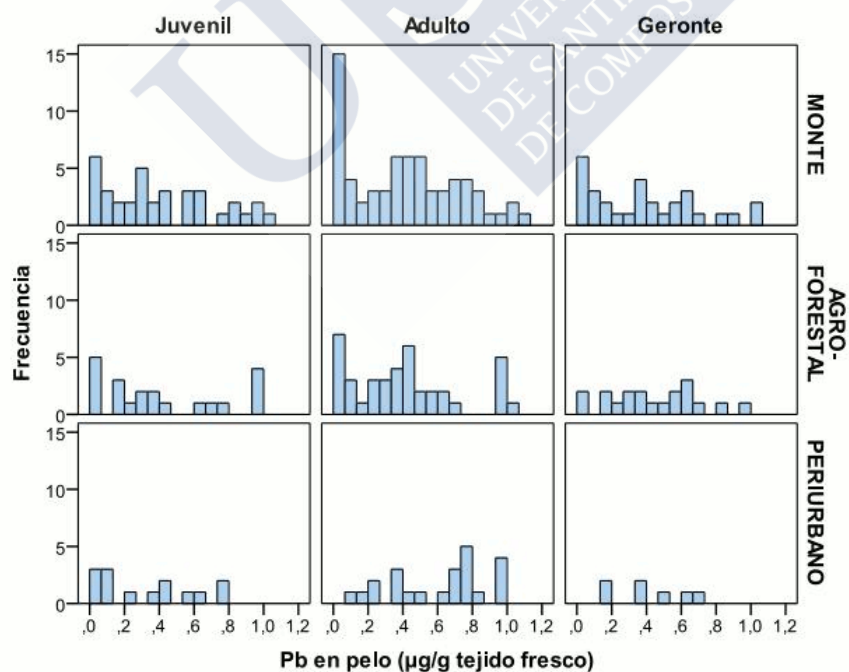
**Tabla 35.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de plomo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función de la edad y del hábitat.



**Gráfica 30.** Distribución de las concentraciones de plomo ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y hábitat).



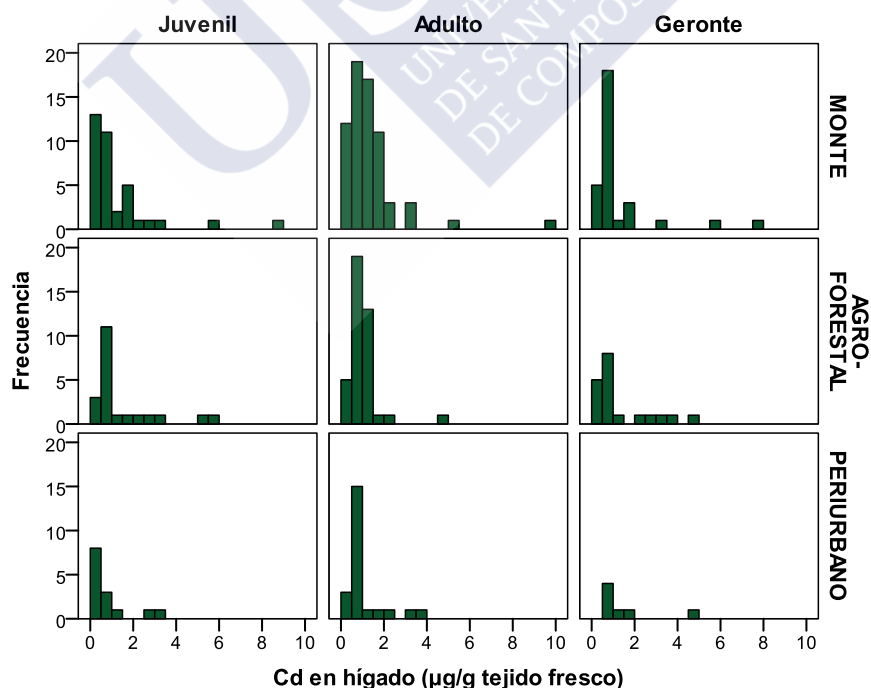
**Gráfica 31.** Distribución de las concentraciones de plomo ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y hábitat).



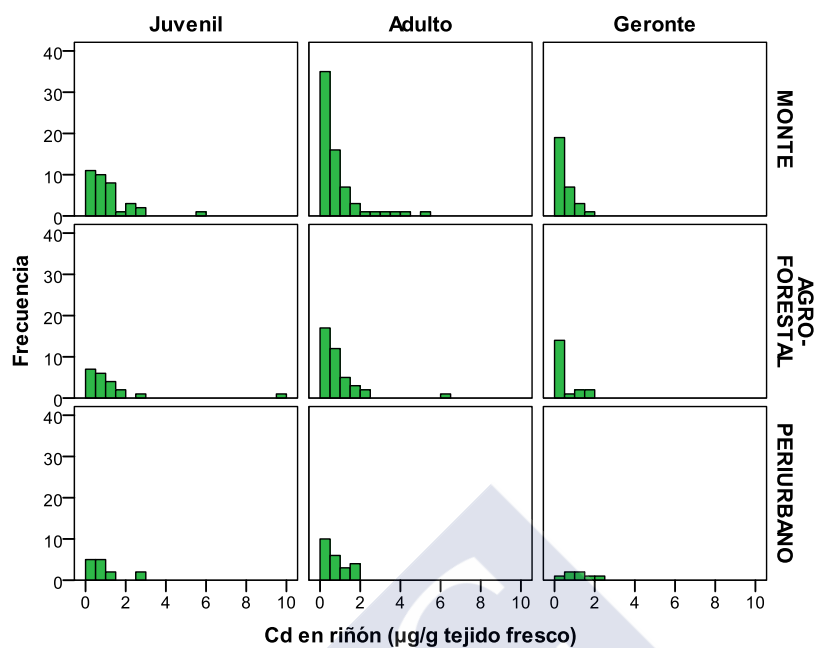
**Gráfica 32.** Distribución de las concentraciones de plomo ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y hábitat).

		Periurbano		Agro-forestal		Monte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	1,054	1,057	1,191	1,187	1,266	1,502
	Riñón	0,872	0,692	0,930	1,285	0,842	0,932
	Pelo	0,002	0,015	0,003	0,019	0,003	0,020
<b>Juvenil</b>	Hígado	0,744	1,074	1,516	1,597	1,226	1,687
	Riñón	0,946	0,873	1,296	2,011	1,114	1,062
	Pelo	N.D.	N.D.	0,006	0,030	0,004	0,022
<b>Adulto</b>	Hígado	1,092	0,887	0,982	0,707	1,299	1,365
	Riñón	0,762	0,551	0,910	1,010	0,855	0,987
	Pelo	0,004	0,020	N.D.	N.D.	0,002	0,012
<b>Geronte</b>	Hígado	1,553	1,453	1,271	1,429	1,240	1,609
	Riñón	1,086	0,744	0,567	0,502	0,486	0,395
	Pelo	N.D.	N.D.	0,005	0,023	0,006	0,327

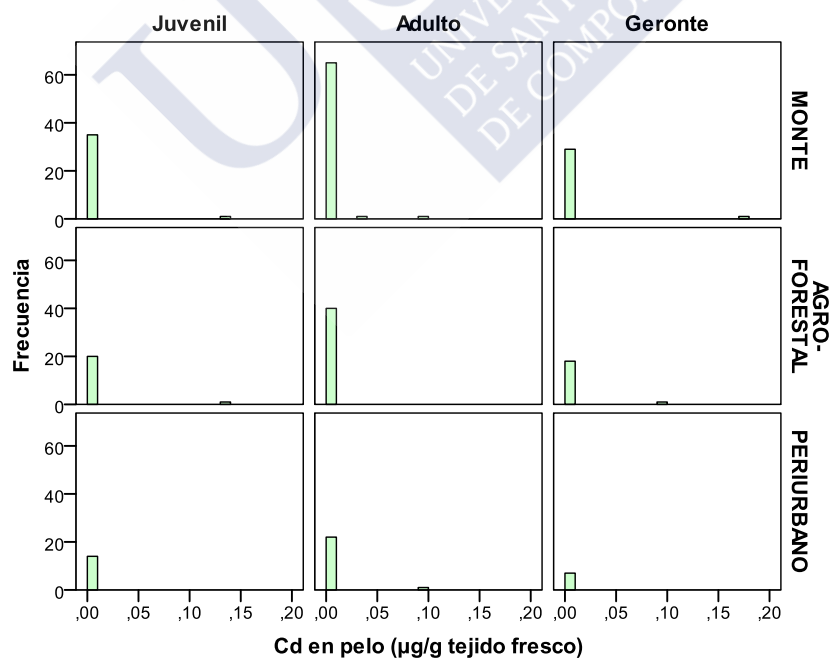
**Tabla 36.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de cadmio en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función de la edad y del hábitat.



**Gráfica 33.** Distribución de las concentraciones de cadmio (µg/g de tejido seco) en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y hábitat).



**Gráfica 34.** Distribución de las concentraciones de cadmio (µg/g de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y hábitat).

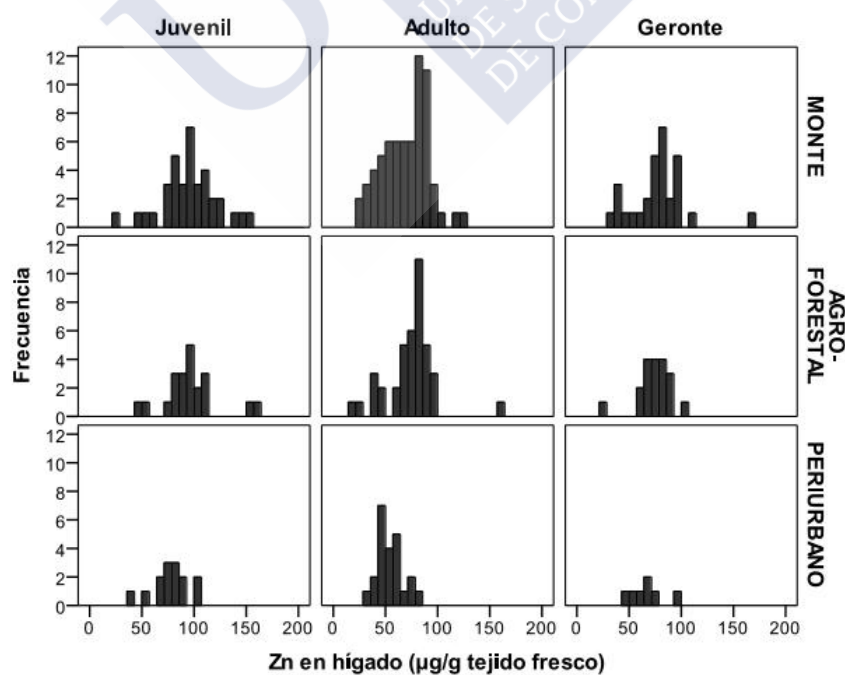


**Gráfica 35.** Distribución de las concentraciones de cadmio (µg/g de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y hábitat).

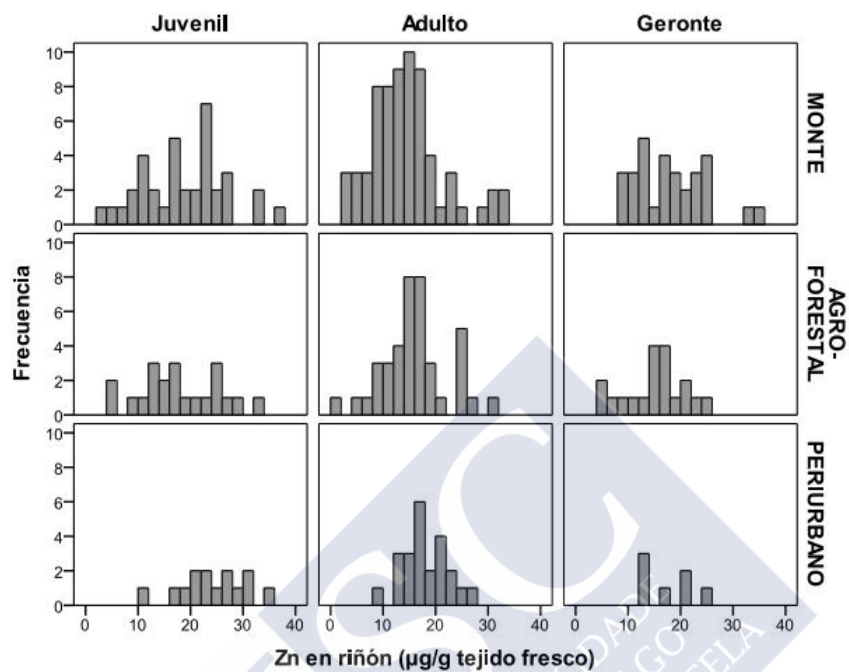
		Periurbano		Agro-forestal		Monte	
		Media	Desv. típica	Media	Desv. típica	Media	Desv. típica
<b>Todos</b>	Hígado	63,17	17,91	80,32	24,64	78,68	26,46
	Riñón	20,17	5,764	16,34	6,543	16,54	7,405
	Pelo	138,1	20,71	147,9	28,61	151,9	26,97
<b>Juvenil</b>	Hígado	76,58	17,93	96,98	25,65	95,78	26,79
	Riñón	24,47	6,152	18,03	7,626	19,03	7,935
	Pelo	152,8	19,65	140,7	27,88	144,5	27,67
<b>Adulto</b>	Hígado	54,2	13,02	74,33	23,95	69,8	22,01
	Riñón	18,37	4,303	16,07	6,27	14,49	6,895
	Pelo	133,6	18,04	159,3	27,22	158,7	27,6
<b>Geronte</b>	Hígado	65,82	15,62	74,53	15,86	77,98	25,96
	Riñón	17,52	4,951	15,06	5,733	18,11	6,744
	Pelo	123,6	14,59	131,8	22,36	145,7	20,94

**Tabla 37.** Valores de concentración (expresados en ppm referido a peso seco) de zinc en las muestras de zorro

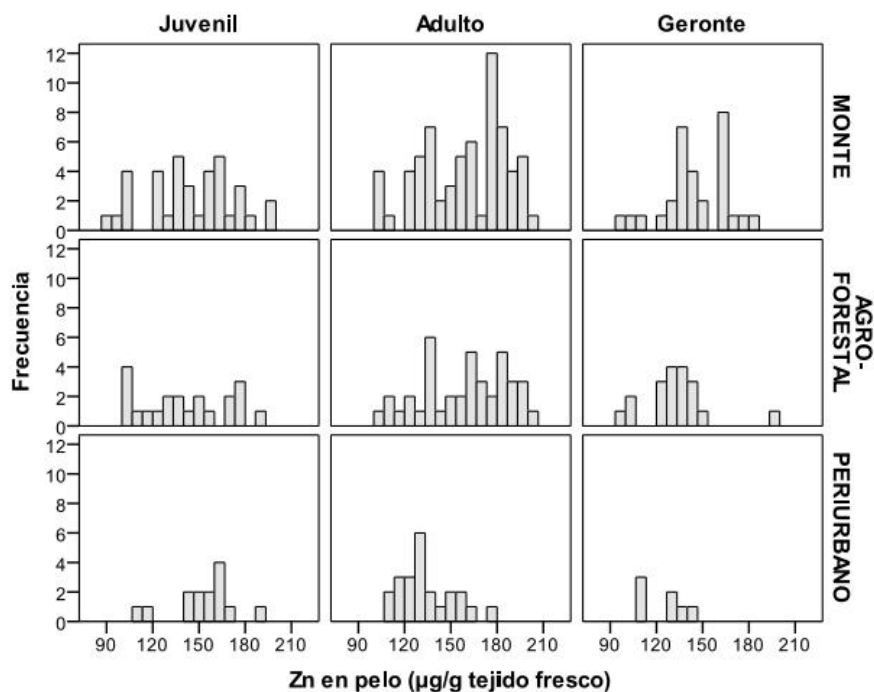
coconsideradas en el presente estudio en función de la edad y del hábitat.



**Gráfica 36.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en



gado en función de los dos factores (edad y hábitat).



**Gráfica 37.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y hábitat).

**Gráfica 38.** Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y hábitat).

### 5.3. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE LOS METALES PESADOS, LOS DIFERENTES TEJIDOS Y SEGÚN LOS FACTORES ANALIZADOS

El concepto de correlación, representado por el coeficiente de correlación, describe la relación entre dos variables. Dos variables se dicen correlacionadas si los cambios en una variable están asociados a los cambios en otra (Hair et al., 2001). No obstante, estos coeficientes hablan de la presencia de una relación lineal y de su intensidad, pero no se puede inferir la existencia de una relación causal y no recogerá las relaciones no lineales (la no linealidad no implica independencia). Un coeficiente de correlación se dice que es significativo si se puede afirmar, con una cierta probabilidad, que es diferente de cero, y para ello se emplea el test de no correlación.

En primer lugar, se estudiarán qué asociaciones se pueden encontrar en la muestra de estudio respecto de los valores generales de concentración de los metales en los distintos tejidos. Un examen general de los coeficientes de correlación de Pearson, tal como hemos visto con anterioridad (Tabla 19) y que ahora plasmamos de forma resumida en la Tabla 38 para recordar, como introducción al apartado, que no existe correlación lineal significativa en la mayoría de los casos, y en los casos en los que el coeficiente de correlación es significativamente distinto de cero (en base al test de no correlación) (Peña, 2002),  $r$  toma un valor pequeño.

	Pb en hígado	Pb en riñón	Pb en pelo	Cd en hígado	Cd en riñón	Cd en pelo	Zn en hígado	Zn en riñón	Zn en pelo
Pb en hígado	1,000	<b>-0,1237*</b>	-0,0634	<b>-0,1831**</b>	-0,103	-0,0082	<b>-0,2313**</b>	-0,0175	0,0361
Pb en riñón		1,000	-0,0162	0,0591	0,0333	<b>0,1264*</b>	0,0556	-0,0209	-0,0441
Pb en pelo			1,000	0,0163	0,0776	0,0951	0,0173	-0,0423	-0,0166
Cd en hígado				1,000	-0,0823	-0,0265	-0,0346	-0,0466	-0,009
Cd en riñón					1,000	-0,0321	0,056	-0,0304	-0,0959
Cd en pelo						1,000	0,0291	0,0499	-0,0749
Zn en hígado							1,000	0,1053	-0,0213
Zn en riñón								1,000	-0,0035
Zn en pelo									1,000

**Tabla 38.** Coeficientes de correlación de Pearson en el grupo general de estudio. Se destaca en negrita si el coeficiente de correlación es significativamente distinto de cero con nivel de significación del 5% (\*) o del 1% (\*\*).

Conviene recordar que sólo se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre las concentraciones de plomo en hígado y las de cadmio y zinc en hígado (de carácter negativo) y entre el plomo en riñón y el cadmio en pelo (de carácter positivo). No obstante, no se ha encontrado una relación entre los niveles de zinc y cadmio entre los que cabría esperar una relación positiva puesto que los primeros interfieren en la absorción de los segundos (Hermoso de Mendoza et al., 2008).

Con respecto a las correlaciones observadas, y atendiendo al plomo, se han observado correlaciones positivas para los niveles en pelo e hígado ( $p < 0,05$ ) para murciélagos, focas y seres humanos (Hariono et al., 1993; Ikemoto et al., 2004; Gerhardsson et al., 1995). Del mismo modo, otros estudios han observado correlación para el pelo y el contenido de cadmio renal, por ejemplo en castores, ratones y focas (Beernaert et al., 2007; Nolet et al., 1994; Medvedev et al., 1997). Por otro lado, esta falta de correlaciones del zinc en nuestro trabajo ya ha sido descrita por otros investigadores (Medvedev et al., 1997) que no obtuvieron correlaciones de este elemento entre el pelo y los tejidos internos de focas; esto mismo podría ser aplicado para los estudios centrados en el ser humano (Muramatsu y Parr 1988) y otros mamíferos silvestres (Beernaert et al., 2007). En general, las correlaciones positivas entre el pelo y



los órganos internos de los elementos esenciales han sido sólo ocasionalmente reportadas (Ikemoto et al., 2004). Una posible explicación para la ausencia de correlaciones para este elemento esencial posiblemente se encuentre asociada a los niveles de exposición diferentes, pues al tratarse de un elemento esencial puede, en cierta medida, ser regulado en los organismos vivos por mecanismos homeostáticos (Talmage y Walton 1991). Como resultado, la excreción de zinc y otros elementos similares a través del pelo, puede permanecer a un nivel bajo hasta que se alcanza una concentración umbral adecuada.

Por su parte, al considerar las correlaciones entre los metales pesados en los distintos tejidos dentro de cada subpoblación de estudio (dividida según los factores definidos previamente), se encontraron algunos resultados realmente interesantes. Para una revisión completa de los coeficientes de correlación véanse las Tablas 39, 40 y 41.

Observando las correlaciones dentro de las subpoblaciones de sexo, subgrupos de edad, y subgrupos de hábitat, encontramos las mismas pautas que habíamos visto en términos generales: gran mayoría de coeficientes no significativos (para un nivel de confianza del 95%) y, cuando son significativos, las correlaciones son muy bajas (siempre en torno a 0,2).

En el caso concreto de las subpoblaciones formadas en razón del género, podemos comprobar que los machos comparten la correlaciones establecidas para la población total estudiada en los valores de Pb en hígado respecto a las concentraciones de cadmio y zinc en la misma víscera, mientras que a diferencia del grupo general, en esta subpoblación también existe correlación del cadmio renal con las concentraciones hepáticas de plomo y zinc. Los valores medios de las concentraciones de los metales estudiados, en el caso de las hembras, sólo presentan correlación bivariada entre los valores de zinc en el pelo y plomo renal. Las correlaciones, en todos los casos, tienen un valor  $r$  bajo y por tanto con muy escaso valor para poder predecir una variable a partir de la otra.

		Pb en hígado	Pb en riñón	Pb en pelo	Cd en hígado	Cd en riñón	Cd en pelo	Zn en hígado	Zn en riñón	Zn en pelo
Pb en hígado	Corr. Pearson	1,000	-,140	-,075	-,209*	-,199*	,066	-,288**	,000	-,059
	Sig. (bilateral)		,093	,371	,011	,016	,427	,000	,999	,484

Pb en riñón	Corr. Pearson	-,109	1,000	,075	,131	-,067	,093	-,033	-,106	,092
	Sig. (bilateral)	,254		,372	,117	,425	,266	,696	,204	,274
Pb en pelo	Corr. Pearson	-,046	-,129	1,000	,039	,032	,105	-,021	-,017	-,081
	Sig. (bilateral)	,631	,174		,641	,707	,207	,803	,841	,331
Cd en hígado	Corr. Pearson	-,149	-,012	-,016	1,000	-,079	,004	-,023	,003	,031
	Sig. (bilateral)	,117	,901	,867		,344	,958	,779	,971	,708
Cd en riñón	Corr. Pearson	-,018	,113	,132	-,086	1,000	-,070	,164*	-,059	-,117
	Sig. (bilateral)	,854	,236	,167	,370		,406	,049	,485	,163
Cd en pelo	Corr. Pearson	-,088	,156	,086	-,056	-,003	1,000	,115	,041	-,059
	Sig. (bilateral)	,359	,100	,367	,558	,972		,167	,622	,484
Zn en hígado	Corr. Pearson	-,154	,158	,074	-,053	,012	-,065	1,000	,159	,016
	Sig. (bilateral)	,105	,095	,436	,581	,897	,498		,056	,847
Zn en riñón	Corr. Pearson	-,035	,073	-,081	-,109	-,004	,061	,030	1,000	,036
	Sig. (bilateral)	,711	,447	,395	,252	,964	,525	,753		,666
Zn en pelo	Corr. Pearson	,160	-,197*	,081	-,060	-,079	-,094	-,074	-,057	1,000
	Sig. (bilateral)	,091	,037	,397	,530	,410	,327	,436	,551	

\*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral). \*\*La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Macho n= 145 Celdas marcadas en fondo azul.  
Hembra n= 112 Celdas marcadas en fondo sepia.

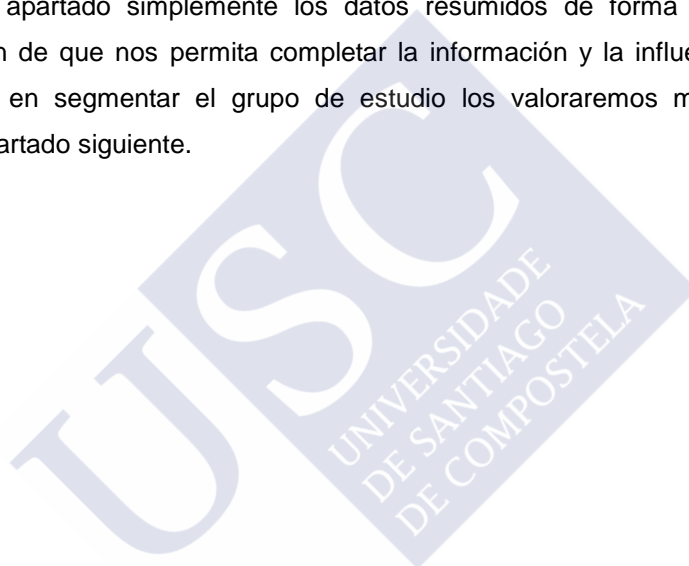
**Tabla 39.** Correlaciones bivariadas de los valores medios de Pb, Cd y Zn en las muestras de la subpoblación de machos (azul) y de hembras (sepia) que formaron el grupo de estudio.

No obstante, en el caso de los subgrupos de edad sí encontramos algunas excepciones. En primer lugar debemos anotar que no existe, en el caso del subgrupo juvenil ninguna correlación bivariada significativa, por este motivo no incluimos la tabla de correlaciones de este subgrupo. Aparece una relación lineal positiva moderada entre el plomo en riñón y el cadmio en pelo entre los ejemplares gerontes (con un coeficiente de 0,587); mientras que en el subgrupo de adultos encontramos correlaciones entre las concentraciones de Pb hepático y las de Cd y Zn en el hígado, así como con las de plomo en el pelo (Tabla 40).

En los grupos de hábitat, también aparecen algunas correlaciones con  $r$  algo más alta, aunque su valor sigue siendo bajo. Las correlaciones observadas en estos grupos, tal como podemos ver en la Tabla 41, no responden a ningún patrón que se repita en los diferentes grupos, metales o

tejidos. Tampoco son correlaciones que recuerden la relación de los metales pesados estudiados en otros grupos. Además, aunque el valor  $r$  es más elevado que en los grupos estudiados anteriormente, en ningún caso alcanza el valor 0,500.

Las correlaciones más elevadas se obtienen al distinguir un nivel más dentro de los grupos, esto es, observando las correlaciones dentro de los grupos de edad y sexo en los diferentes hábitats. Debe mencionarse que el tamaño de los grupos es muy diferente y en algunos casos muy reducido, situación que se debe tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados y la fiabilidad de los mismos. Analizando el conjunto de los resultados, resulta hasta cierto punto sorprendente que los mismos metales pesados no poseen correlaciones bivariadas con ellos mismos en los diferentes tejidos estudiados y sin embargo, especialmente el plomo se correlaciona con los otros dos. Tampoco se observa una pauta de correlación en razón del género ni del grupo etario ni del hábitat, por lo que aportamos en este apartado simplemente los datos resumidos de forma ordenada en la tabla respectiva, con el fin de que nos permita completar la información y la influencia de los diferentes factores empleados en segmentar el grupo de estudio los valoraremos mediante otros análisis estadísticos en el apartado siguiente.



		Pb en hígado	Pb en riñón	Pb en pelo	Cd en hígado	Cd en riñón	Cd en pelo	Zn en hígado	Zn en riñón	Zn en pelo
<b>Pb en hígado</b>	Corr. Pearson	1,000	-0,15	-0,230**	-0,232**	-0,037	0,032	-0,287**	0,054	0,028
	Sig. (bilateral)		0,091	0,009	0,008	0,676	0,72	0,001	0,54	0,751
<b>Pb en riñón</b>	Corr. Pearson	-0,045	1,000	-0,028	0,122	-0,002	-0,063	0,10	0,037	-0,033
	Sig. (bilateral)	0,743		0,757	0,168	0,986	0,481	0,259	0,675	0,71
<b>Pb en pelo</b>	Corr. Pearson	0,234	0,055	1,000	-0,132	0,05	0,091	0,031	0,003	-0,096
	Sig. (bilateral)	0,083	0,685		0,136	0,572	0,307	0,729	0,977	0,278
<b>Cd en hígado</b>	Corr. Pearson	-0,237	0,078	0,235	1,000	-0,109	-0,034	-0,015	-0,01	0,084
	Sig. (bilateral)	0,078	0,566	0,081		0,22	0,698	0,867	0,914	0,342
<b>Cd en riñón</b>	Corr. Pearson	-0,196	-0,031	-0,062	0,043	1,000	-0,027	0,03	-0,116	-0,113
	Sig. (bilateral)	0,148	0,818	0,648	0,754		0,759	0,736	0,19	0,203
<b>Cd en pelo</b>	Corr. Pearson	-0,146	,587**	0,09	-0,083	0,113	1,000	-0,095	-0,018	-0,08
	Sig. (bilateral)	0,282	0,000	0,507	0,543	0,407		0,286	0,838	0,367
<b>Zn en hígado</b>	Corr. Pearson	0,191	-0,116	0,091	-0,075	-0,174	-0,042	1,000	0,009	0,112
	Sig. (bilateral)	0,159	0,395	0,504	0,583	0,20	0,756		0,922	0,207
<b>Zn en riñón</b>	Corr. Pearson	-0,074	-0,229	-0,144	-0,125	0,122	0,10	-0,134	1,000	-0,042
	Sig. (bilateral)	0,586	0,09	0,29	0,357	0,372	0,465	0,323		0,637
<b>Zn en pelo</b>	Corr. Pearson	-0,018	-0,151	-0,153	-0,143	0,014	-0,027	0,013	0,013	1,000
	Sig. (bilateral)	0,895	0,268	0,262	0,293	0,921	0,841	0,925	0,925	

\*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral). \*\*La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Adultos n= 129 Celdas marcadas en fondo azul.

Geronte n= 56 Celdas marcadas en fondo sepia.

**Tabla 40.** Correlaciones bivariadas de los valores medios de Pb, Cd y Zn en las muestras de los subgrupos de edad. Los valores correspondientes a los ejemplares adultos se representan sobre fondo azul y los gerontes sobre fondo sepia. Los datos de los ejemplares jóvenes no se representan por no existir ninguna correlación bivariada en ese subgrupo de población.

		Pb en hígado	Pb en riñón	Pb en pelo	Cd hígado	Cd en riñón	Cd en pelo	Zn en hígado	Zn en riñón	Zn en pelo
Pb en hígado	Corr. Pearson	1,000						-0,456**		
	Sig. (bilateral)							0		
Pb en riñón	Corr. Pearson	-0,179*	1,000				0,234*			
	Sig. (bilateral)	0,039					0,037			
Pb en pelo	Corr. Pearson			1,000	0,239*			-0,493**	-0,305*	
	Sig. (bilateral)				0,033			0,001	0,044	
Cd en hígado	Corr. Pearson	-0,264**			1,000	0,378*				
	Sig. (bilateral)	0,002				0,011				
Cd en riñón	Corr. Pearson					1,000				
	Sig. (bilateral)									
Cd en pelo	Corr. Pearson						1,000			
	Sig. (bilateral)									
Zn en hígado	Corr. Pearson	-0,241*		0,176*				1,000	0,223*	
									0,334*	
	Sig. (bilateral)	0,002		0,033					0,047	
									0,027	
Zn en riñón	Corr. Pearson								1,000	0,443**
	Sig. (bilateral)									0,003
Zn en pelo	Corr. Pearson									1,000
	Sig. (bilateral)									

\*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

\*\*La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Monte n= 133 Celdas marcadas en fondo verde.

Agroforestal n=80 Celdas marcadas en fondo gris

Periurbano n= 44 Celdas marcadas en fondo amarillo.

**Tabla 41.** Correlaciones bivariadas de los valores medios de Pb, Cd y Zn en las muestras de los subgrupos establecidos según el hábitat de procedencia. Los valores correspondientes a los ejemplares periurbanos se representan sobre fondo amarillo, los de monte sobre fondo verde y los agroforestales sobre fondo gris. En blanco y sin cifras cuando no existe ninguna correlación bivariada significativa.

## **5.4. INFLUENCIA DEL SEXO, LA EDAD Y EL ÁMBITO GEOGRÁFICO EN LOS NIVELES DE PLOMO, CADMIO Y ZINC EN EL ZORRO**

Se ha descrito hasta este punto el grado de acumulación de los metales pesados en los tejidos del zorro en función de variables endógenas y exógenas. Así mismo, se ha explorado la fuerza de las relaciones entre estas variables a través de coeficientes de correlación. En este apartado del estudio se considera oportuno dar un paso más y determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de metales pesados en los tejidos en función de los factores considerados (sexo, edad y hábitat); o, equivalentemente, estudiar la variabilidad de esas concentraciones en relación con esos factores. De este modo, en el presente apartado no tratamos de comparar nuestros resultados con otros, ni considerar si son mayores o menores las concentraciones de metal pesado acumuladas en determinadas vísceras de ejemplares procedentes de un hábitat concreto, simplemente tratamos de establecer si existe o no influencia de los factores estudiados y de la combinación de estos mismos factores en los resultados.

Por tanto, en este apartado del estudio se examina, mediante técnicas estadísticas, si los factores sexo, edad y ámbito (hábitat) influyen o no en los niveles de las variables plomo, cadmio y zinc que presentan los zorros, cada una de ellas determinada en hígado, riñón y pelo. El análisis se basa en un el análisis de la varianza (ANOVA) factorial y los tests asociados. Este tipo de análisis se caracteriza por contrastar una hipótesis nula por cada factor, y por cada posible combinación de factores, que afirma que las medias de las poblaciones definidas por los niveles del factor son iguales y que el efecto de la interacción entre factores también es nulo (Hair et al., 2001). Si se rechaza esta hipótesis, sabremos que existen las diferencias estadísticamente significativas que comentamos y, por tanto, que los factores influyen en la acumulación de metales pesados. A continuación, se pueden realizar pruebas *post hoc* (HSD de Tukey y DMS) para saber exactamente qué medias son diferentes comparando cada par de poblaciones.

No obstante, para comenzar con este análisis el primer aspecto que se debe explorar es cómo se distribuyen los valores de los factores que introduciremos en el análisis, cuál es el comportamiento de la variabilidad de los metales en cada factor y si ésta nos puede indicar la presencia de una relación.

### **5.4.1. ANÁLISIS EXPLORATORIO DE LOS FACTORES INFLUYENTES**

Con una simple inspección visual de los gráficos de dispersión 3D de las Gráficas 39, 40 y 41 se observa que la mayor variabilidad del plomo se aprecia en el hígado y en el pelo, la del cadmio en el hígado y en el riñón y, en el caso del zinc, se aprecia una variabilidad considerable tanto en el hígado, como en el riñón y en el pelo, siendo en este último donde presenta una mayor variación.

Todos estos aspectos podemos verificarlos en la tabla 19 donde se expresan los principales estadísticos, que además, han sido tenidos en cuenta para fijar los ejes de los gráficos 3D de las Gráficas 39, 40 y 41.

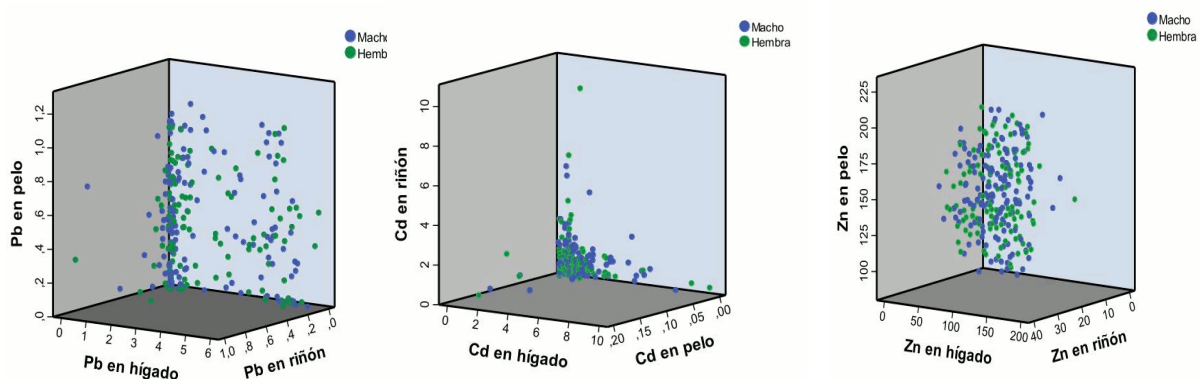
Si analizamos los gráficos de dispersión 3D por sexo (Gráfica 39), se observa que aparentemente el sexo de los ejemplares no influye en ninguno de los factores considerados y así, en los tres gráficos de esta figura, las hembras y machos se distribuyen de forma similar.

Si se examinan a continuación los gráficos de dispersión en función de la edad (Gráfica 40), se aprecia que los juveniles muestran un nivel más bajo de plomo en el hígado que los otros dos grupos de edad (izquierda en la gráfica). Por otro lado, la edad no parece influir en el nivel de cadmio (centro en la gráfica) y tampoco se aprecia que influya en el nivel de zinc (derecha en la gráfica).

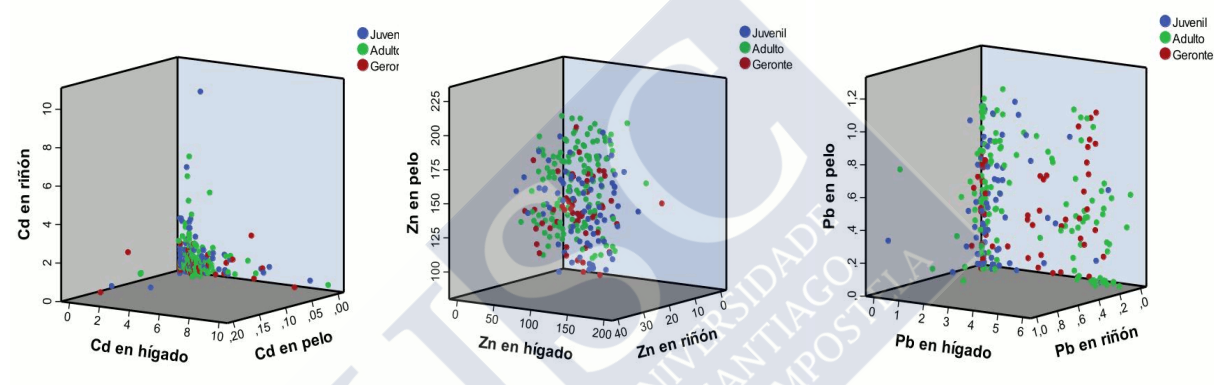
En la Gráfica 41 se aprecia que los zorros de ámbito periurbano presentan niveles bajos de Pb en hígado (izquierda en la gráfica) y aunque no se percibe de forma tan clara, tienden a presentar niveles bajos de Zn en hígado (derecha en la gráfica).

Si examinamos todas estas figuras en busca de relaciones entre variables podemos concluir que no se aprecia relación alguna entre las variables consideradas. Si recordamos el examen de los coeficientes de correlación de Pearson podemos verificar que no existe relación lineal entre ellas.

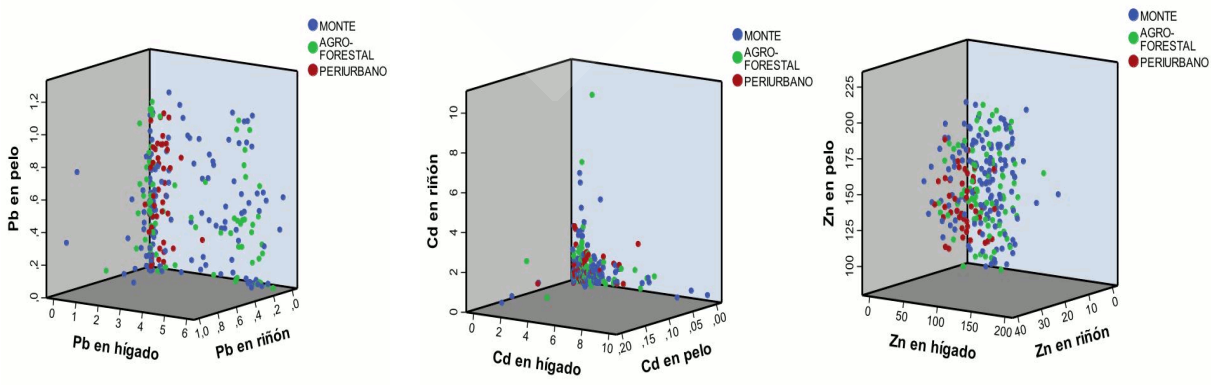




**Gráfica 39.** Diagramas de dispersión 3D de las muestras en función del sexo. Las concentraciones de Pb, Cd y Zn están expresadas en  $\mu\text{g/g}$  de tejido seco.



**Gráfica 40.** Diagramas de dispersión 3D de las muestras en función de la edad. Las concentraciones de Pb, Cd y Zn están expresadas en  $\mu\text{g/g}$  de tejido seco.



**Gráfica 41.** Diagramas de dispersión 3D de las muestras en función del ámbito geográfico. Las concentraciones de Pb, Cd y Zn están expresadas en  $\mu\text{g/g}$  de tejido seco.



### 5.4.2. DETERMINACIÓN DE LOS EFECTOS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVOS

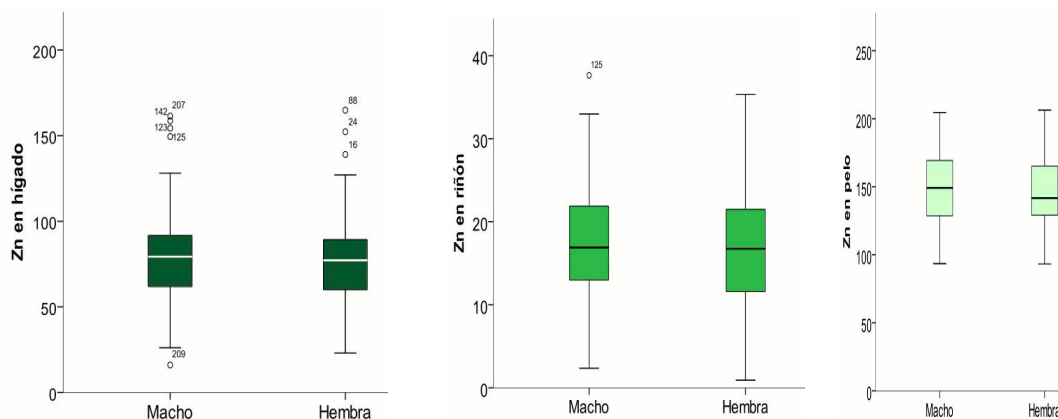
Para examinar con más detalle el efecto de los tres factores estudiados (sexo, edad y hábitat) en las variables consideradas (concentraciones de los metales para cada tejido) se hizo uso de la técnica de análisis de la varianza (Peña, 2002). Inicialmente se podría pensar en considerar los tres factores, pero tras verificar que el efecto del sexo no es significativo (Tabla 42), con los resultados del test Z de igualdad de medias para muestras grandes, según Lapin (1990). Por este motivo se consideró un ANOVA factorial con dos factores: la edad y el ámbito. Los cálculos se realizaron con el paquete estadístico SPSS 19 (Pardo y Ruiz, 2002).

$n_1 = 112$ (hembras) $n_2 = 145$ (machos)	Pb en hígado	Pb en riñón	Pb en pelo	Cd en hígado	Cd en riñón	Cd en pelo	Zn en hígado	Zn en riñón	Zn en pelo
<b>p-valor</b>	0,45	0,80	0,80	0,51	0,90	N.D.	0,49	0,55	0,84

**Tabla 42.** Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de ambos sexos para cada una de las variables.

Detengámonos inicialmente, por tanto, en qué ocurre con el factor sexo. En el caso del cadmio en el pelo las cantidades son tan pequeñas (trazas) o nulas que carece de sentido la comparación de medias (se indica con la abreviatura N.D., no detectable). Mediante este test se contrasta la hipótesis nula de que las medias de las concentraciones de los metales son iguales en machos y hembras; y, por tanto, se está contrastando si el sexo de los zorros repercute en las concentraciones de metales pesados. El resultado de contrastar esta hipótesis ofrece p-valores altos ( $p > 0,10$ ) en todos los casos, por lo que según el test, los resultados no son estadísticamente significativos (ha de aceptarse la hipótesis nula de igualdad de medias). Por tanto, el factor sexo no se puede discriminar a partir de las concentraciones de metales pesados de los tejidos, es decir, el sexo no influye en dichas acumulaciones.

De forma más visual y a modo de ejemplo, en la Gráfica 42 se recogen los gráficos de caja por sexo correspondientes al zinc, en los que se puede apreciar que las diferencias no son relevantes.



**Gráfica 42.** Representación de cajas de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$  de tejido seco) en hígado, riñón y pelo. Las cajas indican los percentiles al 10, 25, 50 (mediana), 75 y 90%, los valores extremos (\*) y los valores atípicos (°).

Dejando al margen la variable sexo, es preciso recordar, como se comentó en el análisis de correlaciones, que no se apreció ningún tipo de relación entre las variables estudiadas. El cumplimiento de este supuesto previo necesario, permite realizar un ANOVA factorial con cada una de ellas. Los modelos factoriales de análisis de la varianza sirven para evaluar el efecto individual, o efectos principales y conjunto, o efecto interacción, de dos o más factores (variables independientes categóricas) sobre una variable dependiente continua. En el presente caso, el modelo se definiría como:

$$\text{Concentración de metal} = \text{Efecto de la edad} + \text{Efecto del hábitat} + \text{Efecto conjunto edad} \times \text{hábitat} + \text{Error}$$

Dado que el diseño es desequilibrado (diferentes tamaños de muestra para cada combinación de los niveles de los factores) se utilizó la descomposición de la varianza basada en una suma de cuadrados tipo III indicada para este tipo de diseño. Los resultados obtenidos se resumen, como se puede observar, en la Tabla 43.

<i>p</i> -valor	Pb en hígado	Pb en riñón	Pb en pelo	Cd en hígado	Cd en riñón	Cd en pelo	Zn en hígado	Zn en riñón	Zn en pelo
<b>Edad</b>	<0,001	0,959	0,142	0,652	0,104	N.D.	<0,001	<0,001	0,002
<b>Hábitat</b>	0,001	0,981	0,721	0,879	0,724	N.D.	0,001	0,024	0,022
<b>Interacción</b>	0,46	0,827	0,132	0,443	0,578	N.D.	0,803	0,16	0,003
<b>Levene</b>	<0,001	0,177	0,768	0,098	0,098	N.D.	0,226	0,208	0,006

**Tabla 43.** Resultados de los F test asociados al ANOVA factorial de dos factores (edad y hábitat). En la tabla se expresan el p-valor del test de no efecto de los efectos principales de la edad y el hábitat y del test de no interacción. La última línea incluye el p-valor del test de Levene de homogeneidad de varianzas.

Una vez se conoce qué casos son válidos en el modelo es posible interpretar sus resultados. Respecto al efecto de la interacción edad x hábitat no es significativo ( $p > 0,10$ ) en todos estos casos en los que según el test de Levene se admite la homocedasticidad. Por tanto, no se puede hablar de que exista una influencia conjunta del hábitat y la edad en las concentraciones de metales pesados.

Fijándonos en los efectos principales, sólo existe un efecto significativo de la edad ( $p < 0,001$ ) en el caso del zinc en el hígado y zinc en el riñón. El efecto del hábitat sólo resulta estadísticamente significativo en los mismos casos, para el zinc en hígado  $p = 0,001$  y para el zinc en riñón  $p = 0,024$ . En este punto, estamos en condiciones de extraer una de las principales conclusiones de nuestro estudio, fundamentadas estadísticamente. El zinc ha resultado ser el metal pesado más eficaz a la hora de encontrar diferencias entre los grupos por edad y hábitat. No contamos con estudios estrictamente comparables a este respecto, ya sea porque no se emplea la misma especie como bioindicador, ya sea porque no se analizan los mismos metales o porque no se realizan test estadísticos (como en uno de los estudios más importantes sobre el zorro realizado por Piskorova et al. (2003)).

Por otra parte, también podemos concluir que las muestras de metales obtenidas en el pelo no han permitido discriminar significativamente los grupos por edad y hábitat. En la misma línea, por ejemplo, Hermoso de Mendoza et al. (2011) tampoco encontraron que el pelo pudiese discriminar de forma significativa entre los niveles de metales pesados por sexo y edad en el lobo del norte de España.

A partir de este momento, los análisis estadísticos sólo permiten seguir estudiando lo que ocurre con el zinc en hígado y riñón. El modelo ANOVA ha confirmado la existencia de diferencias significativas en estas variables según los factores edad y hábitat, ahora es conveniente investigar qué medias de los diferentes grupos son distintas a través de diversas técnicas (englobadas bajo la denominación de contrastes para comparaciones múltiples o pruebas *post hoc*) cuyo objeto es identificar qué grupos son estadísticamente diferentes y en cuánto oscila el valor de esas diferencias.

En primer lugar, la comparación de medias por pares mediante el método de la mínima diferencia significativa o DMS (Peña, 2002) consiste en una prueba de hipótesis por parejas de las medias de los grupos. Esta técnica proporcionó los intervalos recogidos en la Tabla 44 para cada diferencia de medias según los grupos de edad y los mostrados en la Tabla 45 para cada diferencia de medias según los ámbitos. En el cálculo de los intervalos se consideró un nivel de confianza del 95%, por lo que la diferencia de medias es significativa al 5% de una diferencia real en aquellos casos en los que el cero no está dentro del intervalo correspondiente. Los intervalos nos proporcionan además la diferencia media mínima (límite inferior) y la diferencia media máxima (límite superior).

Existen evidencias muestrales para considerar significativa (al 5%) la diferencia de medias entre juvenil y adulto, y entre juvenil y geronte, en ambos casos tanto con respecto al zinc en hígado como con respecto al zinc en riñón. Se observa además que el grupo juvenil parece diferenciarse más del grupo adulto que del geronte (diferencia mínima de 17,3592 frente a 9,1252 en el zinc en hígado, y diferencia mínima de 2,2069 frente a 0,4616 en el zinc en riñón). Por tanto, como concluíamos en el análisis de estadísticos descriptivos, el grupo juvenil es el que mejor se diferencia de los otros grupos de edad y esas diferencias son mayores respecto a los ejemplares adultos que a los gerontes. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el estudio sobre lobos referido anteriormente (Hermoso de Mendoza et al., 2011) en el que encontraron que los valores más altos cuantificados pertenecen a los individuos que son aún cachorros, siguiéndole los adultos y por último, los de edades intermedias.

En cuanto al ámbito, existen evidencias muestrales para considerar significativa (al 5%) la diferencia de medias entre el grupo periurbano y el grupo de monte, y entre el grupo periurbano y el grupo agroforestal, en ambos casos tanto con respecto al zinc en hígado como con respecto al zinc en riñón. Las diferencias mínimas del grupo periurbano respecto al grupo de monte y respecto al grupo agroforestal son similares, tanto para el zinc en hígado (6,2573 vs 7,1740) como para el zinc en riñón (0,9061 vs 0,8838).

La identificación previa de los pares de grupos para los que la diferencia de medias es significativa al 5% (sobre fondo destacado en las Tablas 44 y 45), permite establecer a modo de conclusión del estudio los siguientes subgrupos homogéneos recogidos en la Tabla 46. Estos subgrupos se comprobó además que coinciden con los determinados mediante el método de Tukey, otro método de comparaciones múltiples, que permite superar las dificultades que surgen al aumentar el número de grupos a comparar y no poderse controlar los falsos rechazos de la hipótesis nula de igualdad de medias (Peña, 2002).

Intervalos para un nivel de confianza del 95%	Zn en el hígado			Zn en el riñón		
	Juvenil vs adulto	Juvenil vs geronte	Adulto vs geronte	Juvenil vs adulto	Juvenil vs geronte	Adulto vs geronte
<b>Límite inferior</b>	17,3592	9,1252	-13,9485	2,2069	0,4616	-3,4326
<b>Límite superior</b>	30,4649	24,9975	0,2471	6,0774	5,1492	0,7595

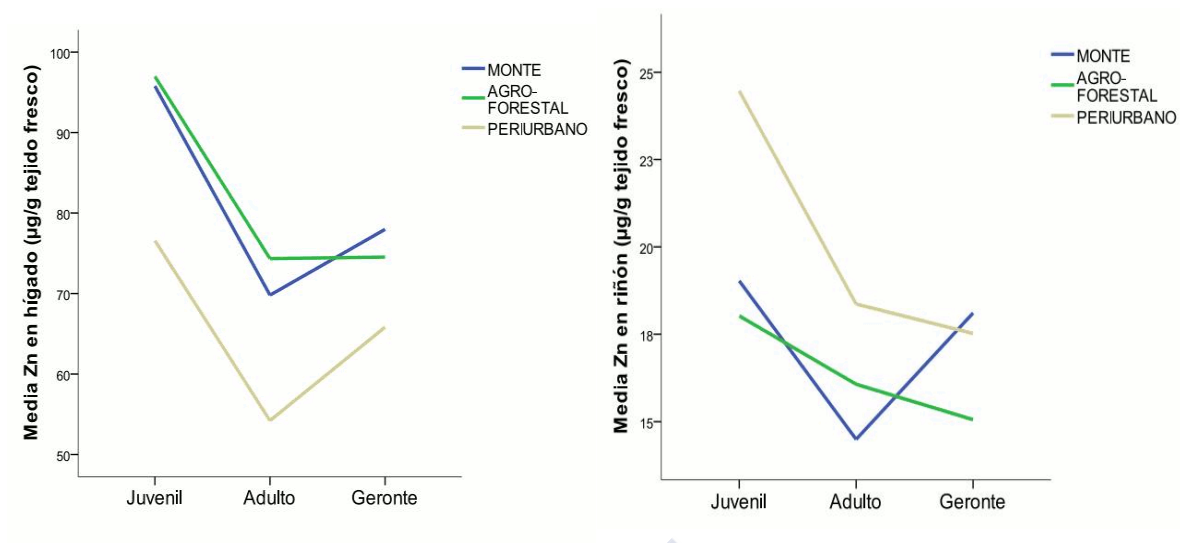
**Tabla 44.** Intervalos de confianza del 95% para las diferencias de medias según la edad (método de la mínima diferencia significativa). Destacados el fondo en aquellos grupos para los que la diferencia de medias es significativa al 5%.

Intervalos para un nivel de confianza del 95%	Zn en el hígado			Zn en el riñón		
	Monte vs periurbano	Agroforestal vs periurbano	Agroforestal vs monte	Periurbano vs monte	Agroforestal vs periurbano	Agroforestal vs monte
<b>Límite inferior</b>	6,2573	7,174	-4,6338	0,9061	0,8838	-1,6616
<b>Límite superior</b>	24,7476	27,1289	7,9318	6,3669	6,7772	2,0495

**Tabla 45.** Intervalos de confianza del 95% para las diferencias de medias según el ámbito (método de la mínima diferencia significativa). Destacados el fondo en aquellos grupos para los que la diferencia de medias es significativa al 5%.

Zn en el hígado				Zn en el riñón			
Grupos por edad		Grupos por ámbito		Grupos por edad		Grupos por ámbito	
G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
Adulto y geronte	Juvenil	Periurbano	Monte y agroforestal	Adulto y geronte	Juvenil	Periurbano	Monte y agroforestal

**Tabla 46.** Subgrupos homogéneos establecidos mediante el método de la mínima diferencia significativa.



**Gráfica 43.** Distribución de medias en función de la edad y del ámbito para las variables Zn en hígado y Zn en el riñón.

En definitiva, las comparaciones múltiples han permitido llegar a la conclusión de que las concentraciones de zinc en hígado y riñón de los zorros muestreados son significativamente diferentes entre el grupo adulto/geronte y el grupo juvenil, por un lado, y el grupo periurbano y el monte/agroforestal, por otro.

Como venimos explicando, la concentración de zinc en hígado no tiene una pauta acumulativa con la edad: las medias son mayores entre los ejemplares juveniles, luego los gerontes y finalmente los adultos, distinguiéndose los juveniles claramente de los otros dos. Por su parte, las concentraciones medias del grupo de ámbito periurbano son considerablemente inferiores a las de los otros ámbitos, sin producirse una pauta de mayor concentración por cercanía a mayores densidades de población humana. Las mayores concentraciones se encuentran en los individuos juveniles del entorno agroforestal, y las menores en los zorros adultos del ámbito periurbano.

Con el zinc en riñón, podemos distinguir los mismos grupos que en el otro tejido, sin embargo, ahora las mayores concentraciones las encontramos entre los ejemplares juveniles del ámbito periurbano y las menores en los individuos adultos de monte.

Una vez realizado el análisis para las variables que nos permitió el modelo ANOVA inicialmente propuesto (aquellas para las que se podía asumir homogeneidad de varianzas), se llevaron a cabo varias transformaciones en las variables para poder estudiar su comportamiento (en las que no se podía suponer con heterocedasticidad), realizando análisis y contrastes sobre las mismas. En la Tabla 43 veíamos que la heterocedasticidad (según el resultado del test de Levene) era significativa para las variables plomo en hígado ( $p < 0,001$ ), y para el zinc en el pelo ( $p = 0,006$ ). En el

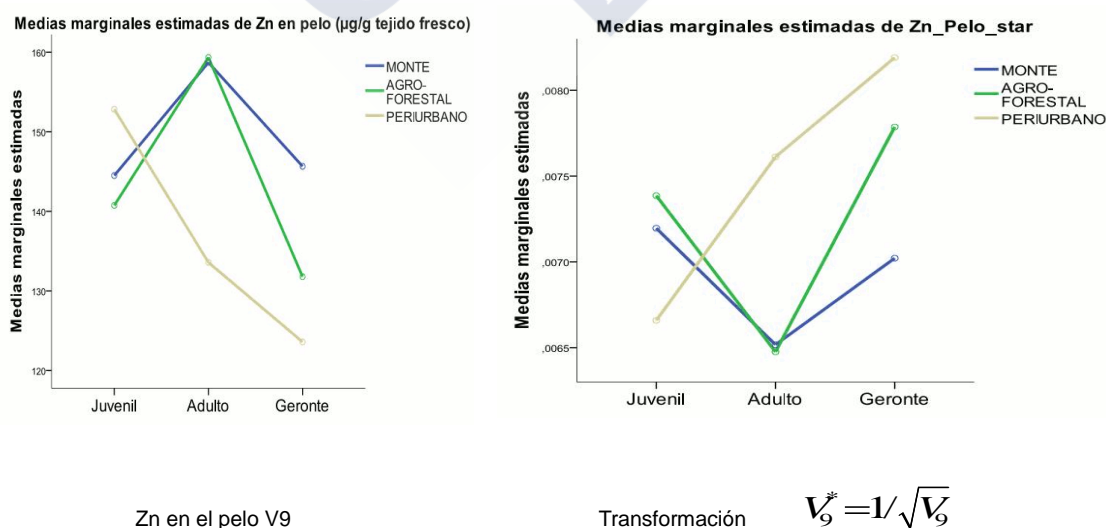
caso del cadmio en el pelo, como ya se comentó, las cantidades son tan pequeñas o nulas que carece de sentido utilizar el ANOVA (lo que se indicó en la Tabla 43 con la abreviatura N.D. de no disponible).

Para buscar una transformación de las variables plomo en hígado y zinc en pelo que permita lograr homocedasticidad, se utilizó como referencia el método de Box-Cox, habitualmente empleado en estadística para corregir problemas de heterocedasticidad (Peña, 2002). En primer lugar, la transformación resultante para la variable zinc en el pelo viene dada por  $Zn_{en\,pelo\,transformada} = 1/\sqrt{Zn_{en\,pelo}}$ . Esta nueva variable transformada permite admitir la homocedasticidad tras aplicarle el test de Levene, obteniéndose un p-valor = 0,114 (Tabla 47). Por tanto, podemos realizar un análisis ANOVA de dos factores para los efectos de la edad y el hábitat.

F test del ANOVA	Edad	Hábitat	Edad x hábitat	Test de Levene
<b>p-valor</b>	0,003	0,034	0,003	0,114

**Tabla 47.** Análisis de la influencia sobre la variable Zn en pelo transformada, de la edad y el hábitat en base a los F tests asociados al ANOVA factorial.

Se puede observar que los efectos de la edad y el hábitat, así como su interacción, son todos significativos. Esto es, existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos etarios, los grupos de hábitats y la interacción entre esos grupos, en los niveles de zinc en pelo de los zorros estudiados. La interacción edad x ámbito se aprecia en los gráficos de medias para los grupos adulto y geronte, que siguen un comportamiento similar respecto al hábitat (Gráfica 44).



**Gráfica 44.** Distribución de medias en función del ámbito para las variables Zn en el pelo y Zn en pelo (transformada).



Sin embargo, el comportamiento del grupo juvenil dista considerablemente del de los otros dos. Esto sugiere, para evitar distorsiones, la necesidad de realizar un análisis de la variable Zn en pelo transformada sin el grupo juvenil y, posteriormente, realizar un análisis del grupo juvenil por separado.

Los resultados de un ANOVA factorial de la variable zinc en pelo transformada eliminando el grupo juvenil se recogen en la Tabla 48. Se puede concluir que existen diferencias significativas entre adulto y geronte,  $p < 0,001$  y que existe un efecto significativo del hábitat,  $p = 0,001$ . Excluyendo el grupo juvenil del análisis, tanto el método de la mínima diferencia significativa (véase la Tabla 48) como el método de Tukey permiten establecer dos grupos por ámbito, como ocurría para las variables zinc en hígado y zinc en riñón: uno formado por el ámbito periurbano, y otro formado por los ámbitos monte y agroforestal.

Intervalos para un nivel de confianza del 95%	Zn en el pelo (transformada)		
	Periurbano vs monte	Periurbano vs agroforestal	Agroforestal vs monte
<b>Límite inferior</b>	0,0036	0,002	-0,001
<b>Límite superior</b>	0,0094	0,0083	0,0036

**Tabla 48.** Intervalos de confianza del 95 % para las diferencias de medias según el hábitat (método de la mínima diferencia significativa) determinados excluyendo al grupo juvenil.

En segundo lugar, para analizar el grupo juvenil en la variable zinc en el pelo, se utilizó el test Z para muestras grandes, que contrasta de forma separada la igualdad de medias. Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 49. Las diferencias entre juvenil y adulto son significativas ( $p = 0,0172$ ), pero no hay diferencias significativas ( $p = 0,1121$ ) entre juvenil y geronte. Por último, al igual que se observó ya en la Tabla 47 para la variable zinc en pelo transformada, el test Z aplicado a zinc en pelo permite concluir que las diferencias entre adulto y geronte son estadísticamente significativas.

n1 = 71 (juveniles) n2 = 130 (adultos) n3 = 56 (gerontes)	Juvenil vs adulto	Juvenil vs geronte	Adulto vs geronte
<b>p-valor</b>	0,0172	0,1121	<0,001

**Tabla 49.** Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de los grupos de edad en base al Zn del pelo.



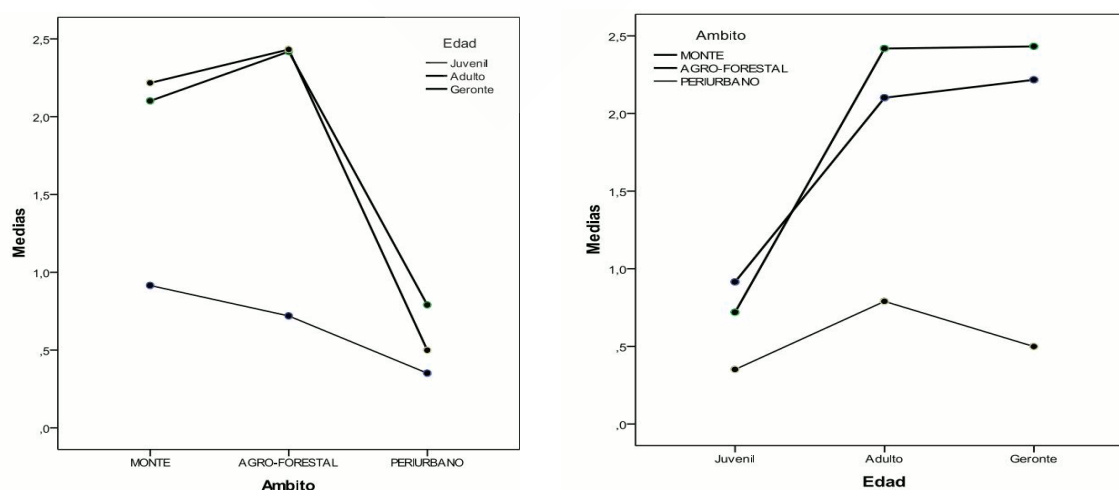
Con respecto al zinc en el pelo resta analizar la influencia del hábitat en el grupo juvenil. Los resultados de los test asociados al ANOVA de un factor (el hábitat) se recogen en la Tabla 50. El test de Levene permite admitir la homocedasticidad ( $p \approx 0,10$ ) y en base al F test del ANOVA no se aprecian diferencias significativas ( $p = 0,342$ ) entre los diferentes hábitats en el grupo juvenil.

F test el ANOVA	Hábitat	Test de Levene
<b>p-valor</b>	0,342	0,095

**Tabla 50.** Análisis de la influencia del hábitat en el Zn en el pelo basado en el ANOVA de un factor (el hábitat).

Al margen de lo anterior, es el momento de estudiar el comportamiento de otra de las variables que inicialmente no permitía suponer homogeneidad de varianzas: el plomo en hígado. En este caso el método de Box-Cox proporciona la transformación logaritmo neperiano, con la forma  $P_{benhígado}transformada = \ln(P_{benhígado})$ . Sin embargo, esta transformación no logra evitar la heterocedasticidad ya que su test de Levene ofrece un p-valor inferior a 0,001. Este inconveniente nos hizo recurrir a otra técnica para contrastar si existían diferencias significativas entre las medias de los grupos: el, ya empleado anteriormente, contraste de igualdad de medias para muestras grandes que realiza los contrastes por pares de grupos (Lapin, 1990).

Antes de entrar en los resultados del test, la inspección visual del gráfico de medias (Gráfica 45) permite apreciar que en esta variable influye la edad (los juveniles presentan valores medios inferiores a los otros dos grupos de edad), e influye también el hábitat (los zorros periurbanos presentan valores medios inferiores a los zorros de los otros dos ámbitos).



**Gráfica 45.** Distribución de medias en función de la edad y el ámbito para la variable Pb en el hígado.

Los resultados de la comparación de los grupos de edad obtenidos se recogen en la Tabla 51. Son significativas las diferencias entre juvenil y adulto ( $p < 0,001$ ) y entre juvenil y geronte ( $p < 0,001$ ), como se apreciaba en la Gráfica 45. También en el caso del plomo, el grupo juvenil presenta una acumulación de este metal que lo distingue claramente de los otros grupos etarios.

n1 = 71 (juveniles)	<b>Juvenil vs adulto</b>	<b>Juvenil vs geronte</b>	<b>Adulto vs geronte</b>	<b>T a b l a</b>
n2 = 130 (adultos)				
n3 = 56 (gerontes)				
<b>p-valor</b>	<0,001	<0,001	0,7238	

**51.** Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de los grupos de edad para la variable Pb en hígado.

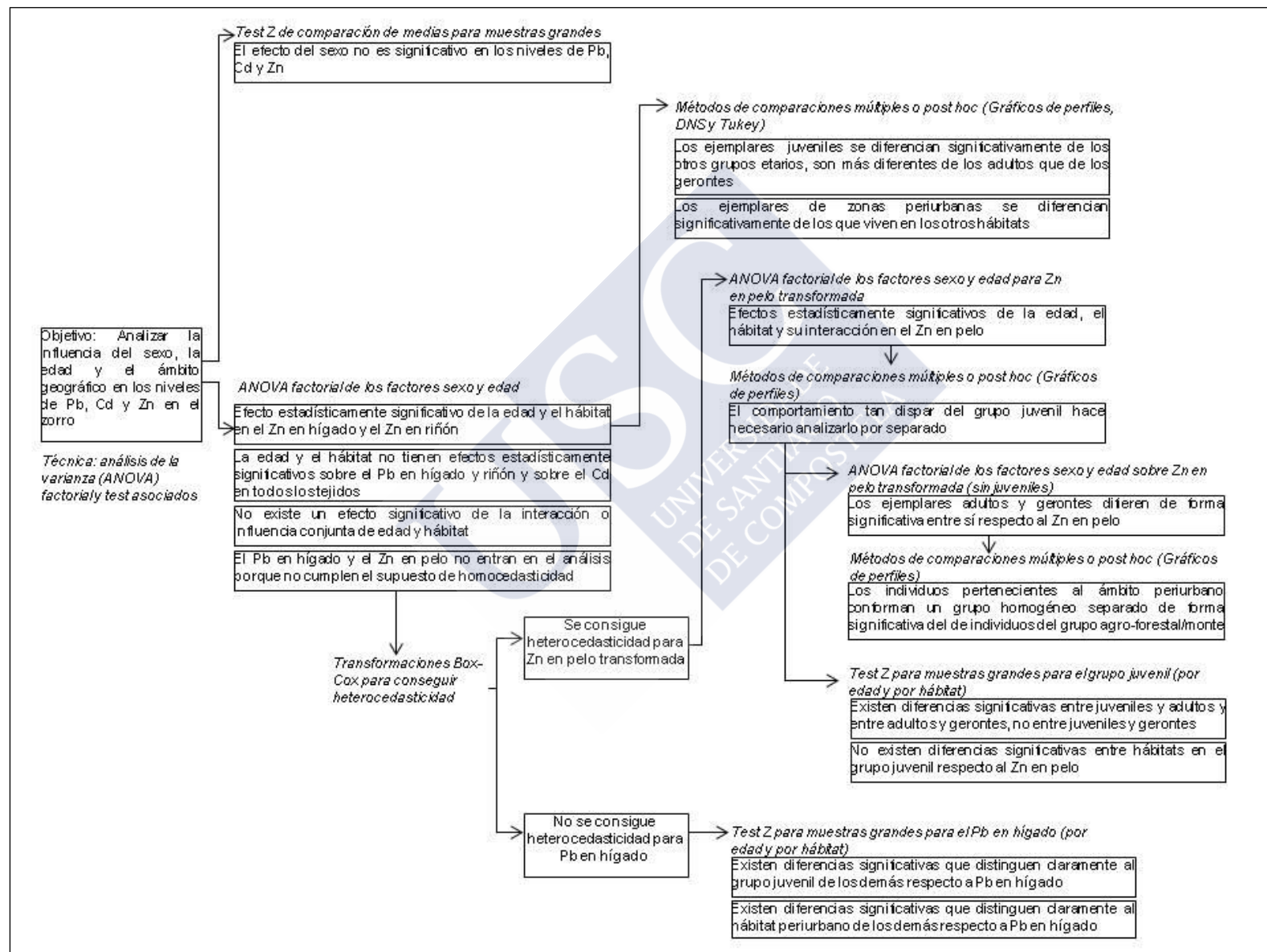
Los resultados de la comparación por pares de los diferentes hábitats se presentan en la Tabla 52. Son significativas las diferencias entre periurbano y monte ( $p < 0,001$ ) y entre periurbano y agroforestal ( $p < 0,001$ ).

n1 = 44 (periurbano)	<b>periurbano vs monte</b>	<b>periurbano vs agroforestal</b>	<b>monte vs agroforestal</b>	<b>T a b l a</b>
n2 = 133 (monte)				
n3 = 80 (agroforestal)				
<b>p-valor</b>	<0,001	<0,001	0,7238	

**Tabla 52.** Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de los grupos de ámbito para la variable Pb en hígado.

Como se apreciaba en la Gráfica 45 (derecha), las concentraciones de plomo en hígado de los ejemplares de zonas periurbanas son muy inferiores en todos los grupos etarios, siendo en las áreas agroforestales y de monte más similares. Esto contrasta con los resultados obtenidos en uno de los estudios de referencia de Dip et al. (2001) sobre niveles de metales pesados en zorros. En dicho estudio era en las zonas suburbanas donde se detectaban mayores concentraciones de plomo en hígado. Esto nos hace pensar que, por detrás de esta discordancia, esté la estructura territorial y de aprovechamiento de tierras propia de Galicia, muy distinta a la de la región de Zurich en Suiza (donde se realizó ese estudio) que tiene un carácter mucho más urbano que el que nosotros tomamos en consideración.

Para finalizar este apartado, y debido a la multitud de pasos seguidos y de análisis realizados, hemos considerado ilustrativo, a modo de conclusión, reflejar todas las fases de este análisis estadístico y sus resultados en un diagrama (Gráfica 46)



Gráfica 46. Análisis estadísticos realizados y sus principales conclusiones



---

# CONCLUSIONES

---





## 6. CONCLUSIONES

1ª.- Para los dos metales pesados tóxicos estudiados, Pb y Cd, las mayores concentraciones se cuantificaron en el hígado, mientras que, como era de esperar, el pelo mostró la mayor concentración de Zn.

2ª.- Las concentraciones de los metales pesados estudiados se encontraban por debajo de los límites indicadores de intoxicación excepto en algunos casos aislados, en los que la concentración de Pb hepático alcanzaba el valor crítico establecido como indicativo de toxicidad.

3ª.- En general, las correlaciones entre los metales pesados estudiados en las diferentes muestras poseen escaso o nulo valor para poder predecir la evolución de una variable a partir de los datos obtenidos de otra.

4ª.- La mayor acumulación de metales pesados en los zorros no está directamente relacionada con la proximidad a zonas de mayor densidad de población humana y sus actividades domésticas habituales de subsistencia, sino más bien con los aprovechamientos del suelo.

5ª.- La ausencia de diferencias significativas entre ambos grupos en función del sexo, así como la falta de una pauta concreta de acumulación de metales pesados con relación a esta variable, indican la posibilidad de excluir esta variable de futuros estudios de biomonitorización de metales pesados con estos animales.

6ª.- Con respecto al factor edad, tan sólo las concentraciones de Pb en el hígado parecen mostrar este efecto acumulativo, sin poderse comprobar este mismo patrón acumulativo dependiente de la edad en el resto de los casos estudiados.

7ª.- En definitiva, a la vista de lo expuesto, es posible considerar al zorro (*Vulpes vulpes*) como un modelo adecuado para la biomonitorización de los metales pesados en el medio natural. A este hecho contribuye la relativa facilidad para la toma de un número adecuado de muestras, su amplia distribución geográfica y sus características etológicas.





---

# RESÚMENES

---





## 7. RESÚMENES

### 7.1. RESUMEN

En la presente memoria de doctorado se han determinado las concentraciones de Pb, Cd y Zn en muestras de diferentes órganos internos de zorros (*Vulpes vulpes*) procedentes de Galicia para, indirectamente, poder valorar los niveles de contaminación ambiental por estos metales pesados en la zona geográfica ocupada por los animales considerados. El empleo del zorro se basa en que se haya situado en la parte alta de la cadena trófica, siendo por tanto potencialmente un adecuado bioindicador de la contaminación ambiental y más específicamente para la biomonitorización de los metales pesados en el medio natural, asociado también a ciertas características fisiológicas y ecológicas de la especie.

Para llevar a cabo el estudio, se han empleado 257 zorros procedentes de batidas de caza autorizadas en las cuatro provincias gallegas. En el trabajo se han tenido en cuenta dos factores endógenos, la edad y el sexo, para poder determinar la influencia de ellos sobre los niveles metálicos, de cara a ver la necesidad de considerarlos en los futuros estudios de biomonitorización. También se ha evaluado la influencia del factor constituido por el ámbito geográfico, para determinar la influencia de la mayor o menor proximidad a actividades humanas en los niveles metálicos obtenidos.

Tras el procesamiento adecuado de las muestras, mediante una mineralización por vía húmeda, para determinar las concentraciones de metales pesados se ha empleado la técnica analítica de voltamperometría de redisolución anódica, sometiéndose los resultados obtenidos a un completo estudio estadístico.

Las mayores concentraciones de Pb y Cd se encontraban en el hígado, mientras que las de Zn se obtuvieron en el pelo; sin embargo es interesante resaltar que las concentraciones de los tres metales pesados fueron en general inferiores a los límites establecidos como indicadores de intoxicación en los animales, excepto en ciertos casos aislados, más concretamente para el Pb, donde para algunas muestras hepáticas se alcanzaba el valor crítico establecido como indicativo de toxicidad.

Por otra parte, se pudo comprobar que, en contra de lo seguramente esperado, la acumulación de metales pesados en las diferentes muestras de los zorros estudiados no estaba directamente relacionada con la proximidad a zonas de mayor densidad de población humana y sus actividades domésticas habituales de subsistencia, sino más bien con los diferentes aprovechamientos del suelo.

Respecto a los factores género y edad, se constató la no existencia de diferencias significativas entre ambos grupos en función del sexo, por lo que esta variable podría ser excluida de futuros estudios de biomonitorización de metales pesados con zorros. Con respecto al factor edad, tan sólo las concentraciones de Pb en el hígado parecerían estar influenciadas por este factor endógeno de forma directa (a más edad, mayores concentraciones), sin poderse comprobar claramente este mismo patrón acumulativo en el resto de los metales estudiados.

En definitiva, en el presente estudio se ha desarrollado un completo estudio de los niveles de metales pesados en el zorro, constituyendo un primer paso en la posible validación de esta especie como adecuado bioindicador en futuros estudios de monitorización ambiental.



## 7.2. RESUMO

Nesta tese, foron determinadas as concentracións de Pb, Cd e Zn en mostras de diferentes órganos internos de raposos (*Vulpes vulpes*) de Galicia, para, de forma indirecta, poder avaliar os niveis de contaminación ambiental por estes metais pesados na zona xeográfica ocupada polos animais considerados. A utilización do raposo baséase en que está situado na parte superior da cadea alimentaria, converténdose nun bioindicador potencialmente adecuado da contaminación do ambiente e máis concretamente para o estudo de toxicidade de metais pesados no contorno natural, e tamén asociado a certas características fisiolóxicas e ecolóxicas da especie.

Para realizar o estudo, utilizáronse 257 raposos procedentes de actividades de caza autorizada nas catro provincias galegas. No traballo, foron tidos en conta dous factores endóxenos, idade e sexo, a fin de determinar a súa influencia sobre os niveis de metal, e así ver a necesidade de consideralos en estudos de biomonitoramento futuros. Tamén foi valorada a influencia do factor constituído pola área xeográfica, para determinar a influencia do grao de proximidade coas actividades humanas nos contidos metálicos obtidos.

Tras o procesamento axeitado das mostras por mineralización húmida, para determinar as concentracións de metais pesados foi empregada como técnica analítica a voltamperometría de redisolución anódica, sometendo os resultados a un estudo estatístico completo.

As maiores concentracións de Pb e Cd estaban no fígado, mentres as de Zn obtivéronse no cabelo, pero é interesante notar que as concentracións dos tres metais foron xeralmente máis baixas dos límites definidos como indicadores de envelenamento nos animais, excepto en casos raros, especialmente para o Pb, en que para algunhas mostras de fígado se alcanzou o valor crítico establecido como indicativo de toxicidade.

Ademais, verificouse que, ao contrario do que seguramente se esperaba, a acumulación de metais pesados nas diferentes mostras estudadas de raposos non estaba directamente relacionada coa proximidade con zonas de alta densidade de poboación humana e as súas actividades domésticas normais de subsistencia, senón cos distintos usos da terra.

En canto aos factores de xénero e idade, comprobouse a non existencia de diferenzas significativas entre os grupos con base ao sexo, de feito que esta variábel podería ser eliminada en futuros estudos de biomonitoramento de metais pesados con raposos. En relación coa idade, só as concentracións de Pb en fígado parecen estar influenciadas por este factor endógeno (a máis idade, maiores concentracións), sen poderse comprobar claramente este mesmo patrón acumulativo no resto dos metais estudados.

En conclusión, o presente estudo desenvolveu un estudo completo dos niveis de metais pesados no raposo, constituíndo un posible primeiro paso para a validación desta especie como biomarcador axeitado para futuros estudos de seguimento ambiental.



### 7.3. ABSTRACT

In the current thesis, the concentrations of Pb, Cd and Zn in samples of different internal organs of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Galicia have been determined, indirectly, in order to assess the levels of environmental pollution associated to those heavy metals in the geographical area occupied by the considered animals. The use of the fox, is based on the fact that it is located at the top of the food chain, being a suitable bioindicator of environmental pollution and more specifically for the biomonitoring of heavy metals in the natural environment, also associated with certain physiological and ecological characteristics of the species.

To carry out the study, 257 red foxes from authorized hunts in the four Galician provinces were used. Two different endogenous factors, age and sex, have been considered, trying to determine their influence on metal levels, in order to evaluate if they must be considered in future biomonitoring studies. It was also evaluated the influence of the factor constituted by the geographical area, in order to determine the influence of the degree of proximity to human activities in the metal levels obtained.

After appropriate processing of the samples by wet mineralization, the analytical technique of anodic stripping voltammetry was used for the determination of the heavy metal concentrations, submitting the results to a complete statistical study.

The highest concentrations of Pb and Cd were obtained in the liver, whereas those corresponding to Zn were obtained on hair, however it is interesting to note that the concentrations of the three metals were generally lower than the limits set as indicators of poisoning to animals, with the exception of some cases, more specifically Pb, where for some liver samples the critical value established as indicative of toxicity was reached.

Moreover, it was found that, contrary to what surely expected, the accumulation of heavy metals in the different red fox samples was not directly related to the proximity to areas of high human population density and normal household activities subsistence, but rather with the different land uses.

Regarding to both gender and age factors, it was found non-significant differences between groups based on gender, so this variable could be excluded from future studies of biomonitoring of heavy metals with foxes. With respect to age, only Pb concentrations in liver appeared to be directly influenced by this endogenous factor, being impossible to observe the same pattern in the remaining studied metals.

In conclusion, at the present study, a comprehensive study of the levels of heavy metals in red fox has been developed, constituting a possible first step in the validation of this species as suitable bioindicator in future studies of environmental monitoring.





## 7.4. RESUMÉ

Dans cette thèse, nous avons déterminé les concentrations de Pb, Cd et Zn dans des échantillons de différents organes internes du renard (*Vulpes vulpes*) provenant de la Galice, pour indirectement évaluer les niveaux de pollution de l'environnement par ces métaux lourds dans la région géographique occupée par les animaux considérés. L'utilisation de cette espèce d'étude, le renard, est basée sur le fait de qu'elle se trouve au sommet de la chaîne alimentaire, ce qui en fait potentiellement bio-indicateur approprié de pollution de l'environnement et plus particulièrement pour la biosurveillance des métaux lourds dans l'environnement naturel aussi associée à certaines caractéristiques physiologiques et écologiques des espèces.

Pour réaliser cette étude, nous avons utilisé 257 renards provenant d'expéditions de chasse autorisées dans les quatre provinces galiciennes. Au travail, nous avons examiné deux facteurs endogènes, l'âge et le sexe, afin de déterminer leur influence sur les niveaux de métaux, pour voir la nécessité de tenir compte de ces deux facteurs dans les études de biosurveillance futures. Également l'influence du facteur constitué par la zone géographique a été évaluée, afin de déterminer l'influence du degré de proximité des activités humaines dans les niveaux de métaux obtenus.

Après un traitement approprié des échantillons par minéralisation humide, afin de déterminer les concentrations de métaux lourds. La technique d'analyse de voltampérométrie inverse a été employée, et après les résultats on été soumis à une étude statistique complète.

Les plus fortes concentrations de Pb et Cd étaient dans le foie, tandis que pour le Zn elles ont été obtenues sur les cheveux, mais il est intéressant de noter que les concentrations des trois métaux étaient généralement inférieures aux limites fixées en tant qu'indicateurs de l'intoxication animaux, sauf dans certains cas rares, en particulier pour le Pb, où pour certains échantillons de foie les concentrations ont atteint la valeur critique établie comme indicateur de toxicité.

En outre, il a été constaté que, contrairement à ce que sûrement prévu, l'accumulation de métaux lourds dans les différents échantillons étudiés n'était pas directement liée à la proximité de zones à forte densité de population humaine et les activités normales de ménage subsistance, mais plutôt avec les différentes utilisations des terres.

En ce qui concerne les facteurs de sexe et d'âge, on a constaté des différences non significatives entre les groupes en fonction du sexe, de sorte que cette variable pourrait être exclue de futures études de biosurveillance des métaux lourds avec des renards. Par rapport à l'âge, seulement les concentrations de Pb dans le foie semblent être influencées directement par ce facteur endogène, étant impossible de voir clairement la même tendance cumulative dans les autres métaux étudiés.

En conclusion, la présente étude a mis au point une étude approfondie des niveaux de métaux lourds dans le renard, constituant une possible première étape dans la validation de cette espèce comme biomarqueur approprié dans de futures études de surveillance de l'environnement.



# BIBLIOGRAFÍA





## 8. BIBLIOGRAFÍA

**AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR).** ToxFAQs tm para cadmio (cadmium). 1999. *On línea:* [www.atsdr.cdc.gov/es/](http://www.atsdr.cdc.gov/es/), actualizada el 11/03/04, consultada hasta el 14/08/13.

**AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR).** ToxFAQs tv para zinc (Zinc). 2003. *On línea:* [www.atsdr.cdc.gov/es/](http://www.atsdr.cdc.gov/es/), actualizada el 11/03/04, consultada hasta el 14/08/13..

**AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR).** 2008 *On línea:* [www.atsdr.cdc.gov/es/](http://www.atsdr.cdc.gov/es/), actualizada el 11/03/04, consultada hasta el 14/08/13..

**ALLEN SH, SARGEAN AB.** A rural mail-carrier index of North Dakota red foxes. Wild. Soc. Bull. 3. pp: 74-77. 1975.

**ALLEVA E, FRANCIA N, PANDOLFI M, DE MARINIS AM, CHIAROTTI F, SANTUCCI D.** Organochloride and heavy metal contaminants in wild mammals and birds of Urbino-Pesaro Province, Italy: An analytic overview for potential bioindicators. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 51. pp: 123-134. 2006.

**ALTUNA J.** Estudio biométrico de *Vulpes vulpes* L. y *Alopex lagopus* L. Contribución a su diferenciación en los yacimientos paleolíticos cantábricos. MUNIBE (Antropología-Arqueología) 56. pp: 45-59. 2004.

**AMORES F.** Diet of the red fox (*Vulpes vulpes*) in the western Sierra Morena (South Spain). Doñana Acta Vertebrata 2. pp: 221-239. 1975.

**ANKE M, KOSLA T, GROPPPEL B.** The cadmium status in horses from central Europe depending on breed, sex, age and living area. Arch. For Tierernahrung. 39. pp: 657-683. 1989.

**APPELBEE AJ, THOMPSON RC, OLSON ME.** *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife-current status and future needs. Trends. Parasitol. 21 (8). pp: 370-376. 2005.

**ARNOSKY J.** Wild tracks! a guide to Nature's footprints. Sterling Publishing Company. Inc. New York. 2008.

**ARRIBAS A, PALMQVIST P.** El registro fósil de los cánidos de Cuaternario en España: inferencias taxonómicas y paleobiológicas. *On línea:* <http://webpersonal.uma.es/~ppb/Canidos.htm>, consultada hasta el 3 de julio de 2013.

**ARTOIS M.** Le renard roux (*Vulpes vulpes* Linné, 1958). Société Française d'étude et de protection des Mammifères (SFEPM). Encyclopédie des carnivores de France n°3. 1989.

**ASANO R, SUZUKI K, OTSUKA T, OTSUKA M, SAKURAI H.** Concentration of toxic metals and essential minerals in the mane hair of healthy racing horses and their relation to age. J. Vet. Med. Sci. 64 (7). pp: 607-610. 2002.

**BALLESTEROS F.** Las especies de caza en España. Biología, ecología y conservación. Estudio y Gestión del Medio. Colección técnica. Oviedo. 1998.

**BARJA I, DE MIGUEL FJ, BÁRCENA F.** Distribución espacial de los excrementos de Zorro rojo (*Vulpes vulpes*, Linnaeus, 1758) en los Montes do Invernadeiro (Ourense). Galemys 13 (Número Especial). pp: 171-178. 2001.

**BEARD PM, DANIELS MJ, HENDERSON D, PIRIE A, RUDGE K, BUXTON D, RHIND S, GREIG A, HUTCHINGS MR, McKENDRICK I, STEVENSON K, SHARP JM.** Paratuberculosis infection of nonruminant wildlife in Scotland. J. Clin. Microbiol. 39 (4). pp: 1517-1521. 2001.

**BEERNAERT J, SCHEIRS J, LEIRS H, BLUST R, VERHAGEN R.** Non-destructive pollution exposure assessment by means of wood mice hair. Environ. Pollut. 145. pp: 443-451. 2007.

**BLANCO JC.** Estudio ecológico del zorro, *Vulpes vulpes* (L 1758), en la sierra de Guadarrama. Tesis doctoral. Universidad de Oviedo. 1988.

**BLANCO JC, GONZÁLEZ JL.** Libro Rojo de los Vertebrados. Colección Técnica. ICONA. 1992.

**BLOOD DC.** Manual de medicina veterinaria. 9ª Ed. Mc. Graw-Hill Interamericana. Madrid. 2002.

**BÖGER K, ARATA A, MOEGLE H, KNOR P.** Recovery of reduced fox populations in rabies control. Zl. Vet. Med. B. 21. pp: 401-412. 1974.

**BOITANI L, FULLER TK.** Research techniques in animal ecology: controversies and consequences. Columbia University Press. New York. 2000.

**BOLAN NS, DURASAMY VP.** Role of inorganic and organic soil amendments on immobilisation and phytoavailability of heavy metals: a review involving specific case studies. Aust. J. Soil Res. 41 (3). pp: 533 - 555. 2003.

**BOLAN NS, KHAN MA, DONALDSON J, ADRIANO DC, MATTHEW C.** Distribution and bioavailability of copper in farm effluent. Sci. Total Environ. 309 (1-3). pp: 225-236. 2003.

**BOOKHOUT TA.** Research and management techniques for wildlife and habitats. The Wildlife Society. Bethesda. Maryland. 1994.

**BOUKAÏBA N, FLAMENT C, ACHER S, CHAPPUIS P, PIAU A, FUSSELIER M, DARDENNE M,**

- LEMONNIER D.** A physiological amount of zinc supplementation: effect on nutritional, lipid, and thymic status in an elderly population. *Am. J. Clin. Nutr.* 57.pp: 566-572. 1991.
- BRAUNE BM, NORSTROM RJ, WONG MP, COLLINS BT, LEE J.** Geographical distribution of metals in livers of polar bears from the Northwest Territories, Canada. *Sci. Total Environ.* 100. pp: 283-299. 1991.
- BREITSCHWERDT EB, ARMTRONG P, ROBINETTE C, DILLMAN R, KARL M, LOWRY E.** Three cases of acute zinc toxicosis in dogs. *Vet. Hum. Toxicol.* 28. pp: 109-117. 1986.
- BRILLA LR, CONTE V.** Effects of a novel zinc-magnesium formulation on hormones and strength. *J. Exerc. Physio.* 3. pp: 26-36. 2000.
- BROUSSET DM, GALINDO F, VALDEZ RA, ROMANO M, SCHUNEMAN A.** Cortisol en saliva, orina y heces: evaluación no invasiva en mamíferos silvestres. *Vet. Mex.* 36 (3). pp: 325-337. 2005.
- BURGER J.** A framework and methods for incorporating gender-related issues in wildlife risk assessment: gender-related differences in metal levels and other contaminants as a case study. *Environ. Res.* 104. pp: 153-162. 2007.
- BURGER J, FOSSI C, MCCLELLAN-GREEN P, ORLANDO EF.** Methodologies, bioindicators and biomarkers for assessing gender-related differences in wildlife exposed to environmental chemicals. *Environ. Res.* 104. pp: 135-152. 2007.
- BURGER J, GAINES KF, LORD C, SHUKLA S, GOCHFELD M.** Metal levels in raccoon tissues: differences on and off the Department of Energy's Savannah River Site in South Carolina. *Environ. Monit. Assess.* 7. pp: 67-84. 2002.
- BURGER J, GOCHFELD M.** Metal levels in feathers of cormorants, flamingos and gulls from the coast of Namibia in southern Africa. *Environ. Monit. Assess.* 69. pp: 195-203. 2001.
- CABRERA A.** Fauna Ibérica. Mamíferos. 441. Ed. Museo Nacional de Ciencias Naturales. Madrid. 1914.
- CALVIÑO F, CANALS JLS, BAS A, DE CASTRO A, GUTIÁN J.** Régimen alimenticio del zorro (*Vulpes vulpes*) en Galicia, noroeste de la Península Ibérica. *Bol. Est. Central Ecol.* 25. pp: 83-89. 1984.
- CAPÓ M.** Principios de Ecotoxicología. Diagnóstico, tratamiento y gestión del medio ambiente. Ed. McGraw-Hill. Madrid. 2002.
- CASTAÑOS P.** Los carnívoros de los yacimientos prehistóricos vascos. *MUNIBE (Antropología-Arkeología)*. 42. pp: 253-258. 1990.

**CATLING PC, BURT RJ.** Why are red foxes absent from some eucalypt forests in eastern New South Wales? Wildl. Res. 22. pp: 535-546. 1995.

**CAVALLINI P, SANTINI S.** Reproduction of the red fox *Vulpes vulpes* in Central Italy. Ann. Zool. Fennizi. 33. pp: 267-274. 1996.

**CEBALLOS O, ALBIZU C, DONAZAR JA.** Reproducción, estructura de edades y otros aspectos del zorro en Navarra. Libro colectivo divulgativo "Carnívoros ibéricos". Quercus. Sevilla. 1991.

**CHALON PX, BAUDUIN B, PASTORET PP, BROCHIER B, MOSSELMANS F.** Structure d'âge et sexe ratio d'une population de renards roux (*Vulpes vulpes*) en Belgique. Cahiers Ethol. Fondam. Appl. Animaux et Humaine. 18 (1). pp: 17-38. 1998.

**CLARKE JU.** Evaluation of censored data methods to allow statistical comparisons among very small samples with below detection limits observations. Environ. Sci. Technol. 32. pp: 177-183. 1998.

**COOKE JA.** Cadmium in small mammals, En: Beyer WN & Meador JP (Eds) Environmental Contaminants in Biota: interpreting tissue concentrations. CRC Press. pp: 627-642 2011.

**CRESPÓN RM.** Desarrollo de métodos analíticos automáticos para la determinación de metales en el medio ambiente laboral. Tesis Doctoral. Facultad de Química. Universidad de Santiago de Compostela. 2008.

**CRIADO-FORNELIO A, GUTIERREZ-GARCÍA L, RODRÍGUEZ-CAABEIRO F, REUS-GARCÍA E, ROLDÁN-SORIANO MA, DÍAZ-SÁNCHEZ MA.** A parasitological survey of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from the province of Guadalajara, Spain. Vet. Parasitol. 92 (4). pp: 245-251. 2000.

**CURTIS MJ, PAGE CP, SUTTER M, BRIAN MW.** Farmacología integrada. Ed. Elsevier España. Madrid. 1998.

**DAVIDSON RK, GJERDE B, VIKOREN T, LILLEHAUG A, HANDELAND K.** Prevalence of *Trichinella* larvae and extra-intestinal nematodes in Norwegian red foxes (*Vulpes vulpes*). Vet. Parasitol. 136 (3-4). pp: 307-316. 2006.

**DE CAMPS JR.** ¿Es el zorro un animal territorial?. En: El zorro, pasión por su caza. De Camps JR (Ed.). Carbrame-98. Barcelona. pp: 97-100. 2004.

**DE LA CASA I.** El corzo (*Capreolus capreolus*) en estudios de biomonitorización ambiental: determinación de biomarcadores de contaminación en Ecotoxicología. Tesis de licenciatura. Universidad de Extremadura. 2010.

**D'HAVE H, SCHEIRS J, MUBIANA VK, VERHAGEN R, BLUST R, DE COEN W.** Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): II. Hair and spines as indicators of endogenous metal and As concentrations. Environ. Pollut. 142, pp: 438-448. 2006.



- DIETZ R, RIGET F, BORN EW.** Geographical differences of zinc, cadmium, mercury and selenium in polar bears (*Ursus maritimus*) from Greenland. *Sci. Total Environ.* 245. pp: 25-47. 2000.
- DIP R, STIEGER C, DEPLAZES P, HEGGLIN D, MÜLLER U, DAFFLON O, KOCH H, NAEGELI H.** Comparison of heavy metal concentrations in tissues of red foxes from adjacent urban, suburban, and rural areas. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40. pp: 551-556. 2001.
- DODDS-SMITH ME, JOHNSON MS, THOMPSON DJ.** Trace metal accumulation by the shrew *Sorex araneus*. II. Tissue distribution in kidney and liver. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 24. pp: 118-130. 1992.
- DOGANOC D, SINIGOJ J, GACNIK K.** Lead and cadmium in meat and organs of game in Slovenia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 54. pp: 166-170. 1995.
- DOMÉNECH X, PERAL J.** Química ambiental de sistemas terrestres. Ed. Reverté S.A. Barcelona. 2006.
- DUFFUS JH.** "Heavy metals" a meaningless term?. *Pure Appl. Chem.* 74 (5). pp: 793-807. 2002.
- EISLER R.** Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. US Fish and Wildlife Service Laurel, MD, 106. 1993.
- FAJARDO LF.** El zorro ibérico (*Vulpes vulpes*): Correlaciones y diferencias entre sus parámetros cefálicos, valorados directamente y mediante diagnóstico por imagen. Determinación futura de trofeos cinegéticos. Tesis Doctoral. Departamento de medicina, cirugía y anatomía veterinaria. Universidad de León. 2008.
- FEDRIANI JM, FULLER TK, SAUVAJOT.** Does availability of anthropogenic foods enhance densities of omnivorous mammals? An example with coyotes in Southern California. *Ecography* 24. pp: 325-331. 2001.
- FERGUSON JF.** The heavy elements: chemistry, environmental, impact and health effects. Pergamon Press. Londres. 1990.
- FERNÁNDEZ DE LUCO D, GORTÁZAR C, VAREA R.** Presencia de *Echinococcus granulosus* en un lobo ibérico (*Canis lupus*). *Doñana Acta Vertebrata.* 24 (1-2). pp: 207-210. 1997.
- FIDALGO LE, LÓPEZ-BECEIRO A, RIGUEIRA L, ESPINO L.** O raposo en Galicia. Observatorio Galego da Caza. 2009.
- FIDALGO LE.** Morfología vulpina en ejemplares estudiados en la comunidad gallega. Comunicación personal. 2010.
- FLYNN A, FRANZMANN AW, ARNESON PD, OLDEMEYER JL.** Indications of copper deficiency in a

subpopulation of Alaskan Moose. J. Nutr. 107. pp: 1182-1189. 1977.

**FOSSI C, LEONZIO C.** The use of non-destructive biomarkers in the hazard assessment of vertebrate populations. En: Fossi C& Leonzio C. (Eds) Non-destructive biomarkers in vertebrates. Eds. Lewis Publishers. Boca Raton, pp: 3-36. 1993.

**FRANK A.** In search of biomonitors for cadmium: cadmium content of wild Swedish fauna during: 1973-1976. Sci. Total Environ. 57. pp: 57-65. 1986.

**FRIEDEN E.** The copper connection. Semin. Hematol. 20. pp: 114-117. 1983.

**FRITSCH C, COSSON RP, COEURDASSIER M, RAOUL F, GIRAUDOUX P, CRINI N, DE VAUFLEURY A, SCHEIFLER R.** Responses of wild small mammals to a pollution gradient: host factors influence metal and metallothionein levels. Environ. Pollut. 158. pp: 827-840. 2010.

**FULLER TK, SIEVERT PR.** Carnivore Conservation. Cambridge University Press. Londres. UK. 2001.

**FUNKE W, FEIGE GB, JAHNKE S, REIDL K.** Handbuch zur Ökologie Analytica. Ed. Kuttler W. Berlín. 1993.

**GALLEGO E.** Metales pesados en especies cinegéticas (ciervo y jabalí) y su repercusión en la salud pública. Tesis de Licenciatura. Universidad de Extremadura. 2006.

**GAMBERG M, BRAUNE BM.** Contaminant residue levels in arctic wolves (*Canis lupus*) from the Yukon Territory, Canada. Sci. Total Environ. 243/244. pp: 329-338. 1999.

**GAMBERG M, PALMER M, ROACH P.** Temporal and geographic trends in trace element concentrations in moose from Yukon, Canada. Sci. Total Environ. 351/352. pp: 530-538. 2005.

**GARCÍA I, ROBLEDANO F, ESTEVE MA.** Abundancias y densidades relativas de zorro *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758) en un humedal del sudeste ibérico: implicaciones para la conservación de sus poblaciones. Anales de Biología. 31. pp: 43-48. 2009.

**GARCÍA-FERNÁNDEZ AJ.** Impregnación por plomo y cadmio en aves silvestres de la Región de Murcia. Tesis Doctoral. Servicios Publicaciones. Universidad de Murcia. 1994.

**GARCÍA-PEREA R, GISBERT J.** Lista patrón de los mamíferos de la Península Ibérica, islas Baleares y Canarias. Galemys 9 (especial). pp: 1-38. 1997.

**GARCÍA-PEREA R, GISBERT J.** Novedades sobre la lista patrón de los mamíferos de la Península Ibérica, Islas Baleares y Canarias. Galemys 10. pp: 2. 1998.

**GARRIDO G, ARRIBAS A.** Vertebrados del Plioceno Superior terminal en el suroeste de Europa: Fonelas P-1 y el Proyecto Fonelas. Cuadernos del Museo Geominero. Ed. Arribas, Madrid. pp: 85-

146. 2008.

**GENTLE MN.** Factors affecting the efficiency of fox (*Vulpes vulpes*) baiting practices on the central tablelands of New South Wales. Tesis Doctoral. School of Biological Sciences. University of Sidney. 2005.

**GERHARDSSON L, ENGLYST V, LUNDSTRÖM NG, NORDBERG G, SANDBERG S, STEINVALL F.** Lead in tissues of deceased lead smelter workers. J. Trace Elem. Med. Biol. 9 (3). pp: 136-143. 1995.

**GIL F.** Tratado de medicina del trabajo. Ed. Masson S.A. Barcelona. 2005.

**GOCHFELD M.** Factors influencing susceptibility to metals. Environ. Health Perspect. 105 (4). pp: 817-822. 1997.

**GONZÁLEZ MA.** Cánidos ibéricos: evaluación de la morfología cefálica con métodos clásicos y actuales de diagnóstico por imagen del lobo ibérico, *Canis lupus signatus*. Tesis Doctoral. Departamento de medicina cirugía y anatomía veterinaria. Universidad de León. 2004.

**GONZALEZ XI, ABOAL JR, FERNANDEZ JA, CARBALLEIRA A.** Evaluation of some sources of variability in using small mammals as pollution biomonitors. Chemosphere 71. pp: 2060-2067. 2008.

**GORTÁZAR C.** Ecología y patología del zorro (*Vulpes vulpes*, L.) en el Valle Medio del Ebro. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. 1997.

**GORTÁZAR C.** Ecología y patología del zorro en el valle medio del Ebro. Consejo de Protección de la Naturaleza de Aragón. Zaragoza. 1999.

**GORTÁZAR C, VILLAFUERTE R, LUCIENTES J, LUCO DF.** Habitat related differences in helminth parasites of red foxes in the Ebro Valley. Vet. Parasitol. 80. pp: 75-81. 1998.

**GUPTA RC.** Veterinary toxicology: basic and clinical principles. Ed. Elsevier Inc. New York. 2007.

**GUZMÁN MC.** La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales. Secretariado de publicaciones de la Universidad de Sevilla. Sevilla. 2007.

**HAIR JF, ANDERSON RE, TATHAM RL.** Análisis multivariante. Prentice-Hall Iberia. Madrid 2001.

**HARDING LE, HARRIS ML, ELLIOTT JE.** Heavy and trace metals in wild mink (*Mustela vison*) and river otter (*Lontra canadensis*) captured on rivers receiving metals discharges. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 61. pp: 600-607. 1998.

- HARIONO B, NG J, SUTTON R.** Lead concentrations in tissues of fruit bats (*Pteropus* sp.) in urban and non-urban locations. *Wildl. Res.* 20 (3). pp: 315-319. 1993.
- HARRIS J.** Guía de bolsillo para los amantes de la naturaleza. Ed. Blume. Barcelona 1984.
- HARRIS S.<sup>a</sup>** An estimation of the number of foxes (*Vulpes vulpes*, L.) in the city of Bristol, and some possible factors affecting their distribution. *J. Appl. Ecol.* 18. pp: 455-465. 1981.
- HARRIS S.<sup>b</sup>** The food of suburban foxes (*Vulpes vulpes*), with special reference to London. *Mammal Rv.* 11 (4). pp: 151-168. 1981.
- HARRIS S, LLOYD HG.** Fox (*Vulpes vulpes*). En: Corbett GB, Harris S. The handbook of British mammals. Blackwell Science Publications. pp: 351-367. London. 1991.
- HARRIS S, BAKER P.** Urban foxes. Whittet Books. London. 2001.
- HARTE J, HOLDEN C, SCHENEIDER R, SHIREY C.** Toxics A to Z. A guide to everyday pollution hazards. Univ. of California Press. 1991.
- HAYASHI M, OKADA I, TATE H, MIURA Y, OHHIRA S, YAMADA Y.** Distribution of environmental pollutants in pet animals: heavy metals in hair of house-dogs. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 26. pp: 60-64. 1981.
- HERMOSO DE MENDOZA M, SOLER F, GARCÍA-FERNÁNDEZ E, LLANEA L, PÉREZ-LÓPEZ M.** Diferencias del sexo y de la edad en el contenido de metales pesados (Cd, Cu, Pb y Zn) en pelos de lobo ibérico (*Canis lupus signatus*) del Norte de España. *Rev. Toxicol.* 28. pp: 140-146. 2011.
- HERMOSO DE MENDOZA M, SOLER F, PÉREZ-LÓPEZ M.** Los mamíferos salvajes terrestres como bioindicadores: nuevos avances en Ecotoxicología. *Observatorio Medioambiental* 11. pp: 37-62. 2008.
- HERNÁNDEZ A.** Captura y almacenamiento de un topo, *Talpa* spp, por un zorro rojo (*Vulpes vulpes*). *Galemys* 13 (2). pp: 71-75. 2001.
- HERNÁNDEZ J.** Los elementos químicos y sus nombres. *Pliegos de Yuste* 4. pp: 57-68. 2006.
- HEYMANN EW, HEISTERMANN M, LÖTTKER P, HUCK M, BÖHLE UR.** Monitoreo no-invasivo de animales silvestres, análisis genéticos y endocrinos a base de muestras fecales en "pichicos barba blanca" (*Saguinus mystax*, Callitrichidae, primates) en la Estación Biológica Quebrada Blanco (EBQB). *Memorias VI Congreso Internacional sobre Manejo de Fauna Silvestre en la Amazonía y Latinoamérica: manejo de fauna silvestre en Amazonia y Latinoamérica.* pp: 78-84. 2004.
- HOEKSTRA PF, BRAUNE BM, ELKIN B, ARMSTRONG FAJ, MUIRA DCG.** Concentrations of selected essential and non-essential elements in arctic fox (*Alopex lagopus*) and wolverines (*Gulo gulo*) from the Canadiac Arctic. *Sci. Total Environ.* 309. pp: 81-92. 2003.

**HOFFMANN SR, BLUNCK SA, PETERSEN KN, JONES EM, KOVAL JC, MISEK R, FRICK JA, CLUFF HD, SIME CA, MCNAY M, BECKMAN KB, ATKINSON MW, DREW M, COLLINGE MD, BANGS EE, HARPER RG.** Cadmium, copper, iron, and zinc concentrations in kidneys of grey wolves, *Canis lupus*, from Alaska, Idaho, Montana (USA) and the Northwest Territories (Canada). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 85. pp: 481-485. 2010.

**HOLDEN NE, COPLEN T.** The periodic table of elements. Chemistry International, 26 (1). 2004.

**HUNTER BA, JOHNSON MS, THOMPSON DJ.:** Ecotoxicology of copper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. IV. Tissue distribution and age accumulation in small mammals. J. Appl. Ecol. 26. pp: 89-99. 1989.

**HYVARINEN H, TYNI P, NIEMINEN P.** Effects of moult, age, and sex on the accumulation of heavy metals in the otter (*Lutra lutra*) in Finland. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 70. pp: 278-284. 2003.

**IKEMOTO T, KUNITO T, WATANABE I, YASUNAGA G, BABA N, MIYAZAKI N, PETROV EA, TANABE S.** Comparison of trace element accumulation in Baikal seals (*Pusa sibirica*), Caspian seals (*Pusa caspica*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). Environ. Pollut. 127 (1). pp: 83-97. 2004.

**INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM (ITIS).** Catalogue of Life: 2010 Annual Checklist. 2010. *On line:* [www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2010/browse/tree/id/7000619](http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2010/browse/tree/id/7000619), consultada hasta el 14/08/13.

**INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE (IUCN).** Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs. Ed. IUCN. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 2004.

**INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE (IUCN).** The IUCN red list of threatened species. *On line:* [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org), consultada hasta el 14/08/13.

**INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC).** *On line:* [www.iupac.org](http://www.iupac.org). 2008., consultada hasta el 01/08/13.

**JEANNE RMV.** La reproduction du renard roux. Tesis Doctoral. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 1987.

**JENSEN B, SEQUEIRA DM.** The diet of the red fox (*Vulpes vulpes*, L.) in Denmark. Dan. Rev. Game. Biol. 10 (8). pp: 2-16. 1978.

**JONHSON DR, HERSTEINSSON P.** Inheritance models of North America red fox coat color. Can. J. Zool. 71. pp: 1364-1366. 1993.

- JURADO R.** Introducción a la toxicología veterinaria. Ed. Tebar Flores. Madrid. 1983.
- JURADO R.** Toxicología veterinaria (2ª Ed). Salvat editores. Barcelona. 1989.
- KAPLAN LA, PESCE AJ.** Química clínica. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. 1991.
- KAROL PJ, NAKAHARA H, PETLEY BW, VOGT E.** On the discovery of the elements 110-112 (IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem. 73 (6). pp: 959-967. 2001.
- KELLY TR, SLEEMAN JM.** Morbidity and mortality of red foxes (*Vulpes vulpes*) and gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) admitted to the Wildlife Center of Virginia, 1993-2001. J. Wildl. Dis. 39 (2). pp: 467-469. 2003.
- KLAASSEN CD, WATKINS JB.** Manual de Toxicología de Caserett y Doull (5ª Ed). McGraw-Hill Interamericana. México DF. 2001.
- KOLF-CLAUW M, GUÉNIN A, PÉREZ-LÓPEZ M.** Micromamíferos y metales pesados: biomonitorización del medio ambiente. Observatorio Medioambiental 10. pp: 19-37. 2007.
- KUSCHINSKY G, LÜLLMANN H.** Manual de farmacología. Ed. Marín S.A. Barcelona. 1973.
- LACROIX AG.** Les oligo-elements bilan d'une enquête epidemiologique dans une clientele bovine. Tesis Doctoral nº 81 de Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 1984.
- LAGADIC L, CAQUET T, AMIARD JC, RAMADE F.** Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Ed. Lavoisier, París. 1998.
- LAGUNA I.** Importancia del zorro rojo (*Vulpes vulpes*) como bioindicador de contaminación ambiental. Tesina de Licenciatura. Universidad de Extremadura, 2009.
- LAMOTHE AR.** Winter food habits and foodchain transfer of metals in wolves (*Canis lupus*) of the Keewatin District, Northwest Territories. Laurentian University, Sudbury, Ontario, Canada. 1991
- LAPIN LL.** Probability and statistics for modern engineering, 2nd edition. PWS-Kent Publishing Company. 1990.
- LARIVIÈRE S, PASITSCHNIK-ARTS Y.** *Vulpes vulpes*. Mamm. Sp. 537. pp: 1-11. 1996.
- LATIMER K, JAIN A, INGLESBY H, CLARCKSON W, JOHNSON G.** Zinc-induced hemolytic anemia caused by ingestion of pennies by a pup. J. Am. Vet. Med. Assoc. 195. pp: 77-80. 1989.
- LLOYD HG, JENSEN B, VAN HAAFTEN JL, NIEWOLD FJJ, WANDELER A, BÖGEL K, ARATA AA.** Annual turnover of fox populations in Europe. Zbl. Vet. Med. B. 23. pp: 580-589. 1976.

**LOPEZ-ALONSO M, BENEDITO JL, MIRANDA M, CASTILLO C, HERNANDEZ J, SHORE RF.** Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. *Sci. Total Environ.* 246. pp: 237-248. 2000.

**LOPEZ-ALONSO M, MIRANDA M, GARCÍA-PARTIDA P, MENDEZ M, CASTILLO C y BENEDITO JL.** Toxic and trace metal concentrations in liver and kidney of dogs. Influence of diet, sex, age and pathological lesions. *Biol. Trace Elem. Res.* 116. pp: 1-17. 2006.

**LOPEZ-ALONSO M, MIRANDA M, GARCIA-PARTIDA P, CANTERO F, HERNANDEZ J, BENEDITO JL.** Use of dogs as indicators of metal exposure in rural and urban habitats in NW Spain. *Sci. Total Environ.* 372. pp: 668-675. 2007.

**LOPEZ-MARTÍN JM, MAÑAS F, LÓPEZ-CLAESSENS S.** Parámetros reproductivos y estructura de edad del zorro *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758) en el NE de España: efectos del control de sus poblaciones. *Galemys* 19 (nº especial). pp: 25-36. 2007.

**LUNNEY D.** Causes of the extinction of native mammals of the western division of New South Wales: an ecological interpretation of the nineteenth century historical records. *Rangeland J.* 23 (1). pp: 44-70. 2001.

**MA W.** Lead in mammals. En: G.H.H. WN Beyer, AW Redmon-Norwood (Ed.), *Environmental Contaminants in Wildlife*. Lewis Publisher, Boca Raton, 281-296. 1996.

**MACDONALD DW.** Social factors affecting reproduction amongst red fox (*Vulpes vulpes*, L.1758). *Biogeographica*, 18. pp: 132-175. 1980.

**MACDONALD D, REYNOLDS J.** Red fox (*Vulpes vulpes*). IUCN Canid Specialist Group. 2005. *On line*: [http://canids.oerg/species/vulpes\\_vulpes](http://canids.oerg/species/vulpes_vulpes)., consultada hasta el 14/08/13.

**MACHACKOVA M, SVASTOVA P, LAMKA J, PARMOVA I, LISKA V, SMOLIK J, FISCHER OA, PAVLIK I.** Paratuberculosis in farmed and free-living wild ruminants in the Czech Republic (1999-2001). *Vet. Microbiol.* 101 (4). pp: 225-234. 2004.

**MANAHAN SE.** Introducción a la química ambiental. Ed. Reverté. Barcelona. 2007.

**MARÍN L.** Aproximación ecotoxicológica a la contaminación por metales pesados en la laguna costera del Mar Menor. Tesis Doctoral. Departamento de Ecología e Hidrología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. 2007.

**MARKERT BA, BREURE AM, ZECHMEISTER HG.** Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. En: Markert BA, Breure AM y Zechmesiter HG (Eds.).



Bioindicators and Biomonitoring: principles, concepts and applications. Ed. Elsevier Science. Amsterdam. pp 3-39. 2003.

**MARTÍ JA, DESOILLE H, VIÑAS V.** Medicina del trabajo. Elsevier España. Barcelona. 2002.

**MARTÍN-ATANCE P, LEÓN-VIZCAÍNO L, PALOMARES F, REVILLA E, GONZÁLEZ-CANDELA M, CALZADA J, CUBERO-PABLO MJ, DELIBES M.** Antibodies to *Mycobacterium bovis* in wild carnivores from Doñana National Park (Spain). J. Wildl. Dis. 42 (3). pp: 704-708. 2006.

**MARTÍN-ATANCE P, PALOMARES F, GONZÁLEZ-CANDELA M, REVILLA E, CUBERO MJ, CALZADA J, LEÓN-VIZCAÍNO L.** Bovine tuberculosis in a free ranging red fox (*Vulpes vulpes*) from Doñana National Park (Spain). J. Wildl. Dis. 41 (2). pp: 435-436. 2005.

**MARTORELL I, GORTÁZAR C.** Reproduction of red foxes (*Vulpes vulpes* L. 1758) in North-Eastern Spain: a preliminary report. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 12 (1). pp: 19-22. 1993.

**MATEO R, GREEN AJ, LEFRANC H, BAOS R, FIGUEROLA J.** Lead poisoning in wild birds from Southern Spain: a comparative study of wetland areas and species affected, and trends over time. Ecotoxicol. Environ. Safety 66 (1). pp: 119-26. 2006.

**MATEO R, GRÍFOLS J, MOLINA R, MARTÍNEZ F, GUITART R.** La intoxicación en aves por ingestión de objetos de plomo. Rev. Consulta Vet. 6 (53). pp: 2014-2023. 1998.

**McILROY J, SAUNDERS G, HINDS LA.** The reproductive performance of female red foxes, *Vulpes vulpes*, in central-western New South Wales during and after a drought. Can. J. Zool. 79 (4). pp: 545-553. 2001.

**MEDVEDEV N.** Levels of heavy metals in Karelian wildlife, 1989 – 91. Environ. Monit. Assess. 56. pp: 177–193. 1999.

**MEDVEDEV N, PANICHEV, N, HYVARINEN H.** Levels of heavy metals in seals of Lake Ladoga and the White Sea. Sci. Total Environ. 206 (2-3). pp: 95-105. 1997

**MÉNDEZ J.** Metales pesados en alimentación animal. XVII Curso de Especialización FEDNA. *On line*: <http://www.etsia.upm.es>. Actualizada en 2001, consultada hasta el 14/08/13.

**MERK & CO.** Manual Merck de Veterinaria (5ª Ed). Ed. Océano Centrum. Barcelona. 2000.

**MIEKELEY N, DIAS CARNEIRO MT, DA SILVEIRA CL.** How reliable are human hair reference intervals for trace elements?. Sci. Total Environ. 218. pp: 9-17. 1998.

**MILLÁN J, ADURIZ G, MORENO B, JUSTE RA, BARRAL M.** Salmonella isolates from wild birds and mammals in the Basque Country (Spain). Rev. Sci. Tech. 23 (3). pp: 905-911. 2004.

**MILLÁN J<sup>a</sup>, JIMÉNEZ MA, VIOTA M, CANDELA MG, PEÑA L, LEÓN-VIZCAÍNO L.** Disseminated



bovine tuberculosis in a wild red fox (*Vulpes vulpes*) in Southern Spain. J. Wildl. Dis. 44 (3). pp: 701-706. 2008.

**MILLÁN J<sup>b</sup>, MATEO R, TAGGART MA, LÓPEZ-BAO JV, VIOTA M, MONSALVE L, CAMARERO PR, BLÁZQUEZ E, JIMÉNEZ B.** Levels of heavy metals and metalloids in critically endangered Iberian lynx and other wild carnivores from Southern Spain. Sci. Total Environ. 399. pp: 193-201. 2008.

**MILTON A, COOKE JA, JOHNSON MS.** Accumulation of lead, zinc, and cadmium in a wild population of *Clethrionomys glareolus* from an abandoned lead mine. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 44. pp: 405-411. 2003.

**MILTON A, JOHNSON M.** Biomonitoring of contaminated mine tailings through age accumulation of trace metals in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). J. Environ. Monit. 1 (3). pp: 219-225. 1999.

**MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE (MMA).** Determinación de la dinámica poblacional del zorro en el Parque Nacional de Doñana. *On line*: [http://www.mma.es/portal/secciones/biodiversidad/especies\\_amenazadas/vertebrados/mamiferos/carnivoros/zorro\\_donana.htm](http://www.mma.es/portal/secciones/biodiversidad/especies_amenazadas/vertebrados/mamiferos/carnivoros/zorro_donana.htm). 2006, consultada hasta el 14/08/13.

**MIRLEAN N, ROISENBERG A, CHIES JO.** Copper-based fungicide contamination and metal distribution in Brazilian grape products. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 75 (5). pp: 968-974. 2005

**MORENO MD.** Toxicología Ambiental. Evaluación de riesgo para la salud humana. Ed. McGraw-Hill. Madrid. 2003.

**MORTON R.** The impact of European settlement on the vertebrate animals of arid Australia: a conceptual model. P. Ecol. Soc. Aust. 16. pp: 201-213. 1990.

**MURAMATSU Y, PARR RM.** Concentrations of some trace elements in hair, liver and kidney from autopsy subjects--relationship between hair and internal organs. Sci. Total Environ. 76 (1). pp: 29-40. 1988.

**MURIE AJ, ELBROCH M.** Peterson field guides to animal tracks. Houghton Mifflin Company. Boston. 2005.

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC).** Nutrient requirement of dairy cattle. National Academic Press. Washington DC. 2001.

**NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC).** Mineral tolerance of animals. Cadmium. National Academic Press. Washington DC. 2005.

**NEEDHAM LL, CALAFAT AM, BARR DB.** Uses and issues of biomonitoring. Int. J. Hygiene Environ. Health. 210. pp: 229-238. 2007.

**NOSTROM RJ, SWEINSBERGRE, COLLINS BT.** Heavy metals and essential elements in liver of the polar bear (*Ursus maritimus*) in the Canadian Arctic. Sci. Total Environ. 48. pp: 195-212. 1986.

**NOLET BA, DIJKSTRA V A, HEIDECKE D.** Cadmium in beavers translocated from the Elbe River to the Rhine/Meuse estuary, and the possible effect on population growth rate. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 27 (2). pp: 154-161. 1994.

**NRIAGU JO, PACYNA JM.** Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. Nature, 333. pp: 134-139. 1988.

**OGDEN L, EDWARDS W, NAIL N.** Zinc intoxication in a dog from the ingestion of copper-clad zinc pennies. Vet. Hum. Toxicol. 30. pp: 577-578. 1988.

**O'HARA TM, CARROLL G, BARBOZA G, MUELLER P, BLAKE K, WOSHNER J.** Mineral and heavy metal status as related to a mortality event and poor recruitment in a moose population in Alaska. J. Wildl. Dis. 37. pp: 509-522. 2001.

**ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE).** *On line:*

[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page\\_refer=MapFullEventReport&reportid=13565&newlang=es](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=13565&newlang=es) , consultada hasta el 14/08/13.

**OSWEILER G.** Toxicology. Williams and Wilkins. Philadelphia. 1996.

**PAIN DJ, RATTNER BA.** Mortality and hematology associated with the ingestion of one number four lead shot in black ducks (*Anas rubripes*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 40. pp: 159-164. 1988.

**PALOMARES F, RUIZ-MARTINEZ I.** Die dichte des rotfucses und die beute an niederwild während der periode der jungenaufzucht mi südosten spaniens. Z. Jagdwiss. 40. pp: 145-155. 1994.

**PALOMO LJ, GISBERT J, BLANCO JC.** Atlas y libro rojo de mamíferos terrestres de España. Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, 2007

**PARDO A, RUÍZ MA.** SPSS 11, Guía para el análisis de datos. McGraw-Hill. Madrid. 2002.

**PEDERSEN S, LIERHAGEN S.** Heavy metal accumulation in arctic hares (*Lepus arcticus*) in Nunavut, Canada. Sci.Total Environ. 368. pp: 951-955. 2006.

**PEÑA P.** Regresión y diseño de experimentos. Alianza Editorial. Madrid 2002

**PICADO AB, ÁLVAREZ M.** Química I: introducción al estudio de la materia. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José. 2008.

**PIEDROLA GG.** Medicina preventiva y salud pública (11ª Ed). Elsevier Masson. Barcelona. 2008.

- PISKOROVÁ L, VASILKOVÁ Z, KRUPICER I.** Heavy metal residues in tissues of wild boars (*Sus scrofa*) and red fox (*Vulpes vulpes*) in the Central Zemplin region of the Slovak Republic. Czech. J. Anim. Sci. 48 (3). pp: 134-138. 2003.
- POLLEY L.** Navigating parasite webs and parasite flow: emerging and re-emerging parasitic zoonoses of wildlife origin. Int. J. Parasitol. 35 (11-12). pp: 1279-1294. 2005.
- PULS R.** Mineral levels in animal health: bibliographies. Sherpa International. 1994.
- RAMOS R, SEPÚLVEDA R, VILLALOBOS F.** El agua en el medio ambiente. Muestreo y análisis. Plaza y Valdés editores. Mexicali. 2002.
- RAU J, BELTRAN JF, DELIBES M.** Can the increase of the fox density explain decrease in lynx numbers at Doñana? Rev. Ecol. (Terre Vie) 40. pp: 145-150. 1985.
- RAU J, DELIBES M, BELTRÁN JF.** Estudio comparado de la dieta de los zorros mediterráneos (Carnivora, Canidae). Anales del Museo de Historia Natural Valparaíso 18. pp: 163-168. 1987.
- RAUSCH VR, RAUSCH RL.** Karyotype of the red fox, *Vulpes vulpes* L. in Alaska. Northwest Sci. 53. pp: 54-57. 1979.
- REGER DL, GOODE SR, BALL DW.** Chemistry: principles and practice. Cengage learning. Belmont. 2009.
- REPETTO M.** Toxicología avanzada. Ed. Díaz Santos, Madrid. 1995.
- RICHARDS DT, HARRIS S, LEWIS JW.** Epidemiology of *Toxocara canis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from urban areas of Bristol. Parasitol. 107 (2). pp: 167-173. 1993.
- RICO JI, PÉREZ-LÓPEZ M.** La actividad física y el zinc: una revisión. Arch. Med. Dep. XXVII (141). pp: 465-476. 2011.
- RIGA F.** Volpe. En: Boitani L, Lovari S, Vigna Taglianti A. (Eds). Fauna d'Italia, Vol XXXVIII. Mammalia III: carnivora – artiodactyla Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare. Ed. Calderini. Bologna. pp: 221-222. 2007.
- ROBILLARD S, BEAUCHAMP G, PAILLARD G, BÉLANGER D.** Levels of cadmium, lead, mercury and 137-caesium in caribou (*Rangifer tarandus*) tissues from Northern Québec. Arctic 55 (1). pp: 1-9. 2002.
- RODER JD.** Manual de toxicología veterinaria. Multimédica SA. Barcelona. 2002.
- ROLLS EC.** They all ran Wild. Ed. Angus and Robertson. Sydney. 1969.
- ROUGHTON RD, SWEENEY MW.** Refinements in scent-station methodology for assessing trends in

carnivore populations. J. Wild. Manag. 46. pp: 217-229. 1982.

**RYU JR, SHIN CY, CHOI JW, MIN HW, RYU JH, CHOI CR, KO KH.** Depletion of intracellular glutathione mediates zinc-induced cell death in rat primary astrocytes. Exp. Brain Res. 143. pp: 257-263. 2002.

**SANCHEZ-CHARDI A, PENARROJA-MATUTANO C, RIBEIRO CA, NADAL J.** Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals. Part II. The wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. Chemosphere 70. pp: 101-109. 2007.

**SANTIAGO D, MOTAS-GUZMÁN M, REJA A, MARÍA-MOJICA P, RODERO B, GARCÍA-FERNÁNDEZ AJ.** Lead and cadmium in red deer and wild boar from Sierra Morena mountains (Andalucía, Spain). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 61 (1). pp: 730-737. 1998.

**SARABIA R.** Toxicidad y acumulación de Cadmio en poblaciones de diferentes especies de *Artemia*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Valencia. 2002.

**SCHMIDLY DJ.** The mammals of Texas. University of Texas Press, Austin. pp: 152-153. 2004.

**SERRANO S, CICUÉNDEZ JJ.** Guía de las huellas, marcas y señales de los animales ibéricos. Ed. Penthalon. Madrid. 1997.

**SHORE RF, CASULLI A, BOLOGOV V, WIONBURG CL, AFSAR A, TOYNE P, DELL'OMO G.** Organochloride pesticide, polychlorinated biphenyl and heavy metal concentrations in wolves (*Canis lupus* L. 1758) from north-west Russia. Sci. Total Environ. 280. pp: 45-54. 2001.

**SHORE RF, DOUBEN PE.** The ecotoxicological significance of cadmium intake and residues in terrestrial small mammals. Ecotoxicol. Environ. Saf. 29. pp: 101-112. 1994.

**SOBRINO R, ARNAL MC, LUCO DE, GORTÁZAR C.** Prevalence of antibodies against canine distemper virus and canine parvovirus among foxes and wolves from Spain. Vet. Microbiol. 126 (1-3). pp: 251-256. 2008.

**SOBRINO R, GONZÁLEZ LM, VICENTE J, DE LUCO DF, GARATE T, GORTÁZAR C.** *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Taeniidae) in the Iberian Wolf. Paras. Res. 99 (6). pp: 753-756. 2006.

**SOGORB MA, VILANOVA E.** Técnicas analíticas de contaminantes químicos. Aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias. Ed. Díaz de Santos. Madrid, 2004.

**SONNE C, DIETZ R, LEIFSSON PS, ASMUND G, BORN EW, KIRKEGAARD M.** Are liver and renal lesions in East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*) associated with high mercury levels?. Environ Health 6. pp: 11- 2007.

- SOULSBURY CD, IOSSA G, BAKER PJ, COLE NC, FUNK SM, HARRIS S.** The impact of sarcoptic mange *Sarcoptes scabiei* on the British fox *Vulpes vulpes* population. Mammal. Rev. 37 (4). pp: 278-296. 2007.
- SOULSBURY CD, IOSSA G, BAKER PJ, HARRIS S.** Environmental variation at the onset of independent foraging affects full-grown body mass in the red fox. Proc. Biol. Sci. 10. pp: 1098-1107. 2000.
- SPAHN SA, SHERRY TW.** Cadmium and lead exposure associated with reduced growth rates, poorer fledging success of little blue heron chicks (*Egretta caerulea*) in South Louisiana wetlands. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37. pp: 377-384. 1999.
- STAHL P.** Suivi de l'abondance d'une population de renards (*Vulpes vulpes*) par comptages nocturnes: Évaluation de la méthode. Gibier Faune Sauvage 7. pp: 293-309. 1990.
- STEPHEN JO, MENNINGER JC, NASH WG.** Atlas of mammalian chromosomes. Ed. John Wiley and Sons, Inc. Publication. NJ. 2006.
- TALCOTT P, PETERSON ME.** Small animal toxicology. WB Saunders. Philadelphia. 2001.
- TALMAGE SS, WALTON BT.** Small mammals as monitors of environmental contaminants. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 119. pp: 47-145. 1991.
- TAPIA L, DOMÍNGUEZ J.** Estima de la abundancia primaveral de liebre ibérica (*Lepus granatensis* Rosenhauer, 1856) y zorro rojo (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) en un área montañosa del noroeste ibérico. Galemys 15 (2). pp: 11-16. 2003.
- TATARUCH F, KIERDORF H.** Mammals as bioindicators. En: Markert BA, Breure AM y Zechmesiter HG (Eds.). Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications. Ed. Elsevier Science. Amsterdam. pp: 737-772. 2003.
- TELLERIA JL, SAEZ-ROYUELA C.** El uso de la frecuencia en el estudio de la abundancia de grandes mamíferos. Acta Oecologica/Oecol. Applic. 7 (1). pp: pp 69-75. 1986.
- TOPOLSKA K, SAWICKA-KAPUSTA K, CIESLIK E.** The effect of contamination of the Kraków region on heavy metals content in the organs of bank voles (*Clethrionomys glareolus*, Schreber, 1780). Pol. J. Environ. Stud. 13 (19). pp: 103-109. 2004.
- TRAVAINI A.** Demografía de la población de zorros (*Vulpes vulpes*) del Parque Nacional de Doñana. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. 1994.
- TRAVAINI A, DELIBES M.** Zorro (*Vulpes vulpes*) en el Parque Nacional de Doñana. Estación biológica de Doñana – Ministerio de Medio Ambiente. Sevilla 2006.

**TRAVAINI A, DELIBES M, FERRERAS P, PALOMARES F.** Diversity, abundance of rare species as a target for the conservation of mammalian carnivores: a case study in Southern Spain. *Biodivers. Conserv.* 6. pp: 529-535. 1997.

**TRAVAINI A, PEREIRA J, MARTÍNEZ-PECK R, ZAPATA SC.** Monitoreo de zorros colorados (*Pseudoalopex culpaeus*) y grises (*Pseudoalopex griseus*) en Patagonia: diseño y comparación de dos métodos alternativos. *J. Neotrop. Mammal.*; 10 (2). pp: 277-291. 2001.

**TRUYEN U.** Parvovirus canino. *On línea:* [http://www.ivis.org/advances/Infect\\_Dis\\_Carmichael/truyen\\_es/IVIS.pdf](http://www.ivis.org/advances/Infect_Dis_Carmichael/truyen_es/IVIS.pdf). 2000, consultada hasta el 14/08/13.

**UNDERWOOD EJ.** Los minerales en la nutrición del ganado. Ed. Acribia. Zaragoza. 1981.

**VALDESPINO C.** Physiological constraints and latitudinal breeding season in the *Canidae*. *Physiol. Biochem. Zool.* 80. pp: 580-591. 2007.

**VARGHA B, OTVÖS E, TUBA Z.** Investigations on ecological effects of heavy metal pollution in Hungary by moss-dwelling water bears (Tardigrada), as bioindicators. *Ann. Agric. Environ. Med.* 9 (2). pp: 141-146. 2002.

**VERSCHUEREN K.** Handbook of environmental data on organic chemicals. Ed. John Wiley & Sons. Hoboken, 2001.

**VOIGT DR.** Red fox: En: Nowak M, Baker JA, Obrad JME y Malloch B (Eds.). Wild furbearer management and conservation in North America. Ontario Ministry of Natural Resources. Pp: 379-392. 1987.

**VOS A.** Population dynamics of the red fox (*Vulpes vulpes*) after the disappearance of rabies in country Garmisch-Partenkirchen, Germany, 1987-1992. *Ann. Zool. Fennici.* 32. pp: 93-97. 1995.

**WANDELER A, WACHENDÖRFER G, FORSTER U, KREKEL H, SCHALE W, MÜLLER J, STECK F.** Rabies in wild carnivores in Central Europe. *Epidemiological studies. Zbl. Vet. Med. B.* 21. pp: 735-756. 1974.

**WANDELER AI, LÜPS P.** *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758) – Rotfuchs. En: Niethammer J y Krapp F (Eds.). Handbuch der Säugetiere Europas. Band 5: Raubsäuger – Carnivora (Fissipedia). Teil I: Canidae, Ursidae, Procyonidae, Mustelidae 1. Aula Verlag. Pp: 139-193. 1993.

**WHITE RG, HOLEMAN DF, HUBBERT ME, STAALAND H.** Herbivores in cold climates. En: J.B. Hacker & J. H. Ternouth (Eds.). Nutrition of herbivores. Academic Press, Sydney. 1987.

**WILLINGHAM AL, OCKENS NW, KAPEL CM, MONRAD J.** A helminthological survey of wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from the metropolitan area of Copenhagen. *J. Helminthol.* 70 (3). pp: 259-263. 1996.

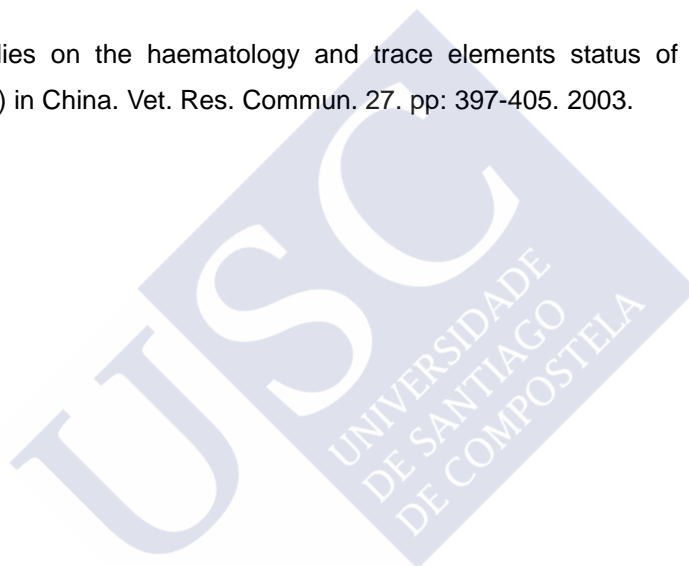
**WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO).** Essential rabies maps. *On line*: [http://www.who.int/rabies/rabies\\_maps/en/index.html](http://www.who.int/rabies/rabies_maps/en/index.html), consultada hasta el 14/08/13.

**WOSHNER VM, O'HARA TM, BRATTON GR, BEASLEY VR.** Concentrations and interactions of selected essential and non-essential elements in ringed seals and polar bears of arctic Alaska. *J. Wildl. Dis.* 37 (4). pp: 711-721. 2001.

**WOZENCRAFT WC.** Order Carnivora: Canidae. Pp: 285-287. En: Wilson DE y Reeder DM (Eds.). *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C. 1993.

**ZAPATA SC, TRAVAINI A, DELIBES M.** Comparación entre varias técnicas de estimación de la edad en zorros, *Vulpes vulpes*, de Doñana (Sur de la Península Ibérica). *Doñana Acta Vertebrata*. 22 (1-2). pp: 29-50. 1995.

**ZONGPING L.** Studies on the haematology and trace elements status of adult Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) in China. *Vet. Res. Commun.* 27. pp: 397-405. 2003.







---

## ANEXOS

---





## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	pág
<b>Gráfica 1.</b> Programa de temperaturas empleadas en el proceso de digestión .....	58
<b>Gráfica 2.</b> Curvas obtenidas en los análisis voltamperométricos en dos muestras de hígado elegidas al azar .....	61
<b>Gráfica 3.</b> Linealidad de respuesta frente a distintas concentraciones de zinc .....	63
<b>Gráfica 4.</b> Linealidad de respuesta frente a distintas concentraciones de plomo .....	63
<b>Gráfica 5.</b> Linealidad de respuesta frente a distintas concentraciones de cadmio .....	63
<b>Gráfica 6.</b> Grupos de ejemplares estudiados clasificados por sexo y edad.....	70
<b>Gráfica 7.</b> Representación de los grupos de ejemplares estudiados clasificados según sexo y hábitat de procedencia azar .....	71
<b>Gráfica 8.</b> Gráfica de barras de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc en las muestras de hígado, riñón y pelo de la población de zorros que formó el grupo de estudio .....	74
<b>Gráfica 9.</b> Representación de cajas de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc en los subgrupos de machos y hembras .....	83
<b>Gráfica 10.</b> Representación de cajas de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc en los subgrupos de edad .....	88
<b>Gráfica 11.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	94
<b>Gráfica 12.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	95
<b>Gráfica 13.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	95
<b>Gráfica 14.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	96
<b>Gráfica 15.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	97
<b>Gráfica 16.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	97
<b>Gráfica 17.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	98
<b>Gráfica 18.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	99
<b>Gráfica 19.</b> Distribución de las concentraciones de zinc ( $\mu\text{g/g}$ de tejido seco) en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y sexo) considerados .....	99

<b>Gráfica 20.</b> Representación de cajas de las concentraciones de plomo, cadmio y zinc en los subgrupos establecidos por el hábitat de procedencia (monte, agro-forestal y periurbanos) .....	102
<b>Gráfica 21.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de hígado en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	107
<b>Gráfica 22.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de riñón en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	107
<b>Gráfica 23.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de pelo en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	108
<b>Gráfica 24.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de hígado en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	109
<b>Gráfica 25.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de riñón en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	109
<b>Gráfica 26.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de pelo en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	110
<b>Gráfica 27.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de hígado en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	111
<b>Gráfica 28.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de riñón en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	111
<b>Gráfica 29.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de pelo en función de los dos factores (sexo y hábitat) considerados .....	112
<b>Gráfica 30.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	113
<b>Gráfica 31.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	114
<b>Gráfica 32.</b> Distribución de las concentraciones de plomo en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	114
<b>Gráfica 33.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	115
<b>Gráfica 34.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	116
<b>Gráfica 35.</b> Distribución de las concentraciones de cadmio en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	116
<b>Gráfica 36.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de hígado en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	117
<b>Gráfica 37.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de riñón en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	118
<b>Gráfica 38.</b> Distribución de las concentraciones de zinc en las muestras de pelo en función de los dos factores (edad y hábitat) considerados .....	118

<b>Gráfica 39.</b> Diagramas de dispersión 3D de las muestras en función del sexo .....	127
<b>Gráfica 40.</b> Diagramas de dispersión 3D de las muestras en función de la edad .....	127
<b>Gráfica 41.</b> Diagramas de dispersión 3D de las muestras en función del ámbito geográfico.....	127
<b>Gráfica 42.</b> Representación de cajas de las concentraciones de zinc en hígado, riñón y pelo .....	129
<b>Gráfica 43.</b> Distribución de medias en función de la edad y del ámbito para las variables Zn en hígado y Zn en el riñón .....	133
<b>Gráfica 44.</b> Distribución de medias en función del ámbito para las variables Zn en pelo y Zn en pelo (transformada) .....	134
<b>Gráfica 45.</b> Distribución de medias en función de la edad y el ámbito para la variable Pb en el hígado .....	136
<b>Gráfica 46.</b> Análisis estadísticos realizados y sus principales conclusiones .....	138



## ÍNDICE DE MÁGENES

	pág
<b>Imagen 1.</b> Distribución de los yacimientos españoles con fósiles de zorro .....	13
<b>Imagen 2.</b> Mapa de distribución de <i>Vulpes vulpes</i> . En azul se indica la población nativa y en rojo la población introducida .....	14
<b>Imagen 3.</b> Comparación entre la huella de un zorro común y un perro .....	18
<b>Imagen 4.</b> Recepción de los zorros en la zona de batida: toma de datos, inspección veterinaria, selección previa, identificación individual, y determinación de la edad .....	55
<b>Imagen 5.</b> Procesado en la sala de necropsia: selección de zorros, material necesario para la toma de muestras y revisión previa al muestreo de la piel y vísceras para comprobar la ausencia de munición .....	56
<b>Imagen 6.</b> a) Bloque digestor Technicon BD-40 con controlador de temperatura Technicon BD-20/40, (b) Procesador 746-VA Trace Analyser, (c) Puesto de trabajo 747-VA Stand, (d) Automuestreador 813 Compact Autosampler .....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

	pág
<b>Tabla 1.</b> Géneros de la familia <i>Canidae</i> .....	11
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica del zorro.....	12
<b>Tabla 3.</b> Alimentos ingeridos por el zorro .....	20
<b>Tabla 4.</b> Tipos de bioindicadores .....	26
<b>Tabla 5.</b> Contenido en metales pesados cuantificados en diferentes especies de mamíferos terrestres mediante métodos destructivos .....	33
<b>Tabla 6.</b> Propiedades fisicoquímicas del Zinc.....	41
<b>Tabla 7.</b> Propiedades fisicoquímicas del plomo.....	44
<b>Tabla 8.</b> Propiedades fisicoquímicas del cadmio .....	48
<b>Tabla 9.</b> Características del segmento de medida del Zn-Cd-Pb en el voltamperímetro Metrohm .....	60
<b>Tabla 10.</b> Condiciones de realización de la técnica de adición de patrón estándar .....	61
<b>Tabla 11.</b> Concentraciones de Cd, Pb y Zn en muestra certificada de músculo bovino liofilizado del BCR (referencia nº 184) .....	62
<b>Tabla 12.</b> Porcentaje de recuperación de metales pesados en muestra certificada .....	62
<b>Tabla 13.</b> Límites de detección de la metodología analítica empleada en el presente estudio .....	64
<b>Tabla 14.</b> Clasificación en grupos en función del sexo de los zorros estudiados .....	69
<b>Tabla 15.</b> Clasificación en grupos en función de la edad de los zorros estudiados .....	70
<b>Tabla 16.</b> Clasificación en grupos en función del hábitat de los zorros estudiados .....	71
<b>Tabla 17.</b> Composición del grupo de estudio en función del sexo, edad y hábitat .....	72
<b>Tabla 18.</b> Valores globales de concentración de plomo, cadmio y zinc en muestras de hígado, riñón y pelo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio .....	73
<b>Tabla 19.</b> Correlaciones bivariadas de los tres metales pesados estudiados en los diferentes tejidos considerados .....	76
<b>Tabla 20.</b> Tabla de frecuencias de las concentraciones de Cd en muestras de pelo.....	79
<b>Tabla 21.</b> Valores de concentración de plomo, cadmio y zinc en muestras de hígado, riñón y pelo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo .....	82
<b>Tabla 22.</b> Diferencia de medias entre el grupo de machos y hembras para las concentraciones de Pb, Cd y Zn en hígado, riñón y pelo.....	85

<b>Tabla 23.</b> Valores de concentración de plomo, cadmio y zinc en muestras de hígado, riñón y pelo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del grupo de edad .....	87
<b>Tabla 24.</b> Prueba de Levene de homogeneidad de varianzas y pruebas robustas de igualdad de las medias de Welch para los parámetros estudiados en los subgrupos según la edad .....	89
<b>Tabla 25.</b> Comparaciones múltiples por el método Scheffé entre los grupos de edad para las concentraciones de Pb, Cd y Zn en los tres tejidos estudiados .....	90
<b>Tabla 26.</b> Valores de concentración de plomo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y de la edad .....	94
<b>Tabla 27.</b> Valores de concentración de cadmio en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y de la edad .....	96
<b>Tabla 28.</b> Valores de concentración de zinc en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y de la edad .....	98
<b>Tabla 29.</b> Valores de concentración de Pb, Cd y Zn en muestras de hígado, riñón y pelo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del hábitat .....	101
<b>Tabla 30.</b> Prueba de Levene de homogeneidad de varianzas y pruebas robustas de igualdad de las medias de Welch para los parámetros estudiados en los subgrupos establecidos según el hábitat .....	103
<b>Tabla 31.</b> Comparaciones múltiples por el método Scheffé entre los distintos hábitats para las concentraciones de Pb, Cd y Zn en los tejidos estudiados.....	104
<b>Tabla 32.</b> Valores de concentración de plomo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y del hábitat .....	106
<b>Tabla 33.</b> Valores de concentración de cadmio en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y del hábitat estudiados .....	108
<b>Tabla 34.</b> Valores de concentración de zinc en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función del sexo y del hábitat .....	110
<b>Tabla 35.</b> Valores de concentración de plomo en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función de la edad y del hábitat .....	113
<b>Tabla 36.</b> Valores de concentración de cadmio en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función de la edad y del hábitat .....	115
<b>Tabla 37.</b> Valores de concentración de zinc en las muestras de zorro consideradas en el presente estudio en función de la edad y del hábitat .....	117
<b>Tabla 38.</b> Coeficientes de correlación de Pearson en el grupo general de estudio .....	119
<b>Tabla 39.</b> Correlaciones bivariadas de los valores medios de Pb, Cd y Zn en las muestras de la subpoblación de machos y de hembras que formaron el grupo de estudio .....	121
<b>Tabla 40.</b> Correlaciones bivariadas de los valores medios de Pb, Cd y Zn en las muestras de los subgrupos de edad .....	123



<b>Tabla 41.</b> Correlaciones bivariadas de los valores medios de Pb, Cd y Zn en las muestras de los subgrupos establecidos según el hábitat.....	124
<b>Tabla 42.</b> Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de ambos sexos para cada una de las variables .....	128
<b>Tabla 43.</b> Resultados de los F test asociados al ANOVA factorial de dos factores (edad y ámbito) .....	130
<b>Tabla 44.</b> Intervalos de confianza del 95% para las diferencias de medias según la edad (método de la mínima diferencia significativa) .....	132
<b>Tabla 45.</b> Intervalos de confianza del 95% para las diferencias de medias según el ámbito (método de la mínima diferencia significativa) .....	132
<b>Tabla 46.</b> Subgrupos homogéneos establecidos mediante el método de la mínima diferencia significativa ....	132
<b>Tabla 47.</b> Análisis de la influencia sobre la variable Zn en pelo transformada, de la edad y el hábitat en base a los F tests asociados al ANOVA factorial .....	134
<b>Tabla 48.</b> Intervalos de confianza del 95% para las diferencias de medias según el hábitat (método de la mínima diferencia significativa) determinados excluyendo al grupo juvenil .....	135
<b>Tabla 49.</b> Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de los grupos de edad en base al Zn en el pelo .....	135
<b>Tabla 50.</b> Análisis de la influencia del hábitat en el Zn en el pelo basado en el ANOVA de un factor (el hábitat) .....	136
<b>Tabla 51.</b> Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de los grupos de edad para la variable Pb en hígado .....	137
<b>Tabla 52.</b> Resultados del test Z para muestras grandes de comparación de medias de los grupos de ámbito para la variable Pb en hígado pelo .....	13